

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Ethnische Unterschiede in der Hautphysiologie,  
Haarfollikelmorphologie und  
follikulären Penetration von topisch applizierten Substanzen**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Natalie Luther  
aus Shelesnodoroshni, Russland

Gutachter/in:     1. Prof. Dr. Dr.-Ing. J. Lademann  
                          2. Prof. Dr. Dr. R. Neubert  
                          3. Prof. Dr. L. Zastrow

**Datum der Promotion: 03. 06. 2012**

*Für meine Eltern,  
Alwina und Viktor Luther,  
sowie meinen Ehemann Dmitry  
und Kinder, Valeria und Roman*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b><i>Einleitung</i></b>	<b>7</b>
<b>1.1.</b>	<b>Ethnische Unterschiede der Haut</b>	<b>7</b>
1.1.1.	Stratum corneum	8
1.1.2.	Barrierefunktion	9
1.1.3.	Irritation	10
1.1.4.	Oberflächliche Hautstruktur	12
1.1.5.	Antioxidantien in der Haut	13
1.1.6.	Melaningehalt und -verteilung	14
<b>1.2.</b>	<b>Transepidermale Penetration</b>	<b>15</b>
<b>1.3.</b>	<b>Haarfollikel</b>	<b>17</b>
1.3.1.	Haarfollikeltypen	18
1.3.2.	Haarfollikelzyklus	19
1.3.3.	Ethnische Haarunterschiede	20
1.3.4.	Haarfollikeldichte an verschiedenen Körperregionen, ethnische Unterschiede	21
1.3.5.	Haarfollikelfläche und Volumen, ethnische Unterschiede	23
<b>1.4.</b>	<b>Haarfollikelpenetration</b>	<b>24</b>
1.4.1.	Offene und geschlossene Follikel	25
<b>1.5.</b>	<b>Methoden zur Untersuchung der Follikelpenetration</b>	<b>26</b>
<b>1.6.</b>	<b>Zielsetzung und Fragestellung</b>	<b>28</b>

<b>2.</b>	<b><i>Material und Methoden</i></b> _____	<b>30</b>
<b>2.1.</b>	<b>Studienprotokoll A - Bestimmung der Hautparameter</b> _____	<b>31</b>
<b>2.2.</b>	<b>Studienprotokoll B - Bestimmung der Follikelparameter</b> _____	<b>36</b>
<b>2.3.</b>	<b>Studiendesign C - Untersuchung der Penetration mittels der Differential-stripping-Methode</b> _____	<b>39</b>
<b>2.4.</b>	<b>Statistische Auswertung</b> _____	<b>42</b>
<b>3.</b>	<b><i>Ergebnisse</i></b> _____	<b>43</b>
<b>3.1.</b>	<b>Studienprotokoll A – Messung der Hautparameter</b> _____	<b>43</b>
<b>3.2.</b>	<b>Studienprotokoll B – Bestimmung der Follikelparameter</b> _____	<b>49</b>
3.2.1.	Haardurchmesser an der Kopfhaut und im Bereich der Wade in $\mu\text{m}$ ____	49
3.2.2.	Durchmesser der Haarfollikelöffnung an der Kopfhaut und im Bereich der Wade in $\mu\text{m}$ _____	50
3.2.3.	Haarfollikeldichte an der Kopfhaut und im Bereich der Wade pro $\text{cm}^2$ _____	51
3.2.4.	Der prozentuale Anteil der Follikelöffnungen an der Hautoberfläche im Bereich der Wade_____	52
3.2.5.	Volumen des Follikelinfundibulums der Terminal- und Vellushaarfollikel an der Kopfhaut und im Bereich der Wade _____	52
3.2.6.	Fläche des Follikelinfundibulums der Terminal- und Vellushaarfollikel an der Kopfhaut und im Bereich der Wade _____	55
<b>3.3.</b>	<b>Studienprotokoll C – Penetrationsmessung</b> _____	<b>58</b>
3.3.1.	Penetration ins Stratum corneum _____	58
3.3.2.	Penetration in die Haarfollikel _____	59
3.3.3.	Prozentualer Anteil von Natriumfluorescein in den Follikeln und im Stratum corneum nach einer Penetrationszeit von 30 min _____	59

<b>4.</b>	<b><i>Diskussion</i></b> _____	<b>61</b>
<b>4.1.</b>	<b>Hautparameter bei drei ethnischen Gruppen</b> _____	<b>61</b>
<b>4.2.</b>	<b>Follikel- und Haarparameter an der Kopfhaut und im Bereich der Wade bei drei ethnischen Gruppen</b> _____	<b>64</b>
4.2.1.	Haardurchmesser _____	64
4.2.2.	Haarfollikeldichte _____	65
4.2.3.	Haarfollikelgröße _____	66
<b>4.3.</b>	<b>Folikelpenetration bei drei ethnischen Gruppen</b> _____	<b>70</b>
<b>5.</b>	<b><i>Zusammenfassung</i></b> _____	<b>74</b>
	<b><i>Literaturverzeichnis</i></b> _____	<b>76</b>
	<b><i>Lebenslauf</i></b> _____	<b>83</b>
	<b><i>Eidesstattliche Erklärung</i></b> _____	<b>84</b>
	<b><i>Danksagung</i></b> _____	<b>85</b>

## **1. Einleitung**

Die menschliche Population ist über den gesamten Erdball verbreitet. Von den kalten Regionen um den Polarkreis bis zur Äquatorhitze hat sich die Haut als unsere natürliche äußere Schutzschicht den entsprechenden Umweltbedingungen anpassen müssen. Die offensichtliche Vielfalt in der Haut- und Haarfarbe zwischen den ethnischen Gruppen lässt vermuten, dass Unterschiede in der Hautphysiologie und Hautstruktur nachgewiesen werden können. Hierfür sprechen nicht nur subjektiv wahrnehmbare Unterschiede, sondern auch Studien, die für die jeweilige ethnische Gruppe charakteristische Probleme im Bereich Medizin und Kosmetik nachweisen konnten. Diese Differenzen haben viele Wissenschaftler dazu bewegt, die Varianz der Hautphysiologie noch genauer zu untersuchen. Die publizierten Ergebnisse sind oft kontrovers. Häufig wurde festgestellt, dass die interindividuellen Hautunterschiede zum Teil bedeutender sind als die ethnischen. In diesem Zusammenhang drängt sich die Frage auf, ob der Melaningehalt und dessen Verteilung die einzigen sicheren Haut- und Haarmerkmale abbilden, um ethnische Gruppen voneinander zu unterscheiden.

Im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit wurden daher verschiedene hautphysiologisch relevante Parameter mit Hilfe von mehreren Messmethoden bei drei ethnischen Gruppen untersucht. Besonderes Interesse galt dabei dem Haarfollikel und dessen Rolle bei der Hautpenetration.

## **1.1 Ethnische Unterschiede der Haut**

Die Haut ist das größte Organ des menschlichen Körpers und macht mehr als 10% des Körpergewichts aus. Die Hauptfunktionen der Haut sind die Reduktion des Wasserverlustes und der Schutz gegen äußere Einflüsse sowie vor Mikroorganismen. Weiterhin stellt die Haut eine wichtige Diffusionsbarriere gegenüber der Umwelt dar. Darunter versteht man einen kontrollierten Transport von unterschiedlichen Stoffen in und durch die Haut.

Strukturell besteht die Haut aus Epidermis, Dermis und Subkutis. Die Epidermis beinhaltet ihrerseits folgende Schichten: Stratum corneum, Stratum lucidum, Stratum granulosum, Stratum spinosum und Stratum basale. Das Stratum corneum ist für die Barrierefunktion von besonderer Bedeutung [1]. Nach Entfernung dieser Epidermisschicht kommt es zum erhöhten Wasserverlust über die Haut und zur Steigerung der Hautpenetration [2].

### **1.1.1 Stratum corneum**

Das Stratum corneum ist die äußere Schicht der Epidermis. Es ist, abhängig vom Körperareal, unterschiedlich dick. Die durchschnittliche Dicke beträgt 10-20  $\mu\text{m}$ . Es besteht aus Korneozyten – verhornten, abgestorbenen, mit Keratin gefüllten Plattenepithelzellen, die untereinander mittels Desmosomen verbunden sind. Andere wichtige Bestandteile des Stratum corneum sind die interzellulären Lipide, welche hauptsächlich für die Hautbarrierefunktion verantwortlich sind [1].

Das Stratum corneum wurde bereits bei unterschiedlichen ethnischen Gruppen untersucht. Die publizierten Ergebnisse sind jedoch häufig kontrovers. Weigand et al. [3] z. B. haben die Zellschichten und die Dichte des Stratum corneum bei Kaukasiern und Afrikanern untersucht. Unter Verwendung des Abrissverfahrens fanden sie heraus, dass bei Afrikanern für die komplette Entfernung des Stratum corneum mehr Abrisse benötigt werden als bei Kaukasiern. Bei Kaukasiern waren hierfür im Durchschnitt 10,3 Abrisse (6 bis 15) notwendig, bei Afrikanern 16,6 (8 bis 25). Es ist ersichtlich, dass die Daten der beiden Gruppen sich überlappen. Außerdem unterscheidet sich die Zahl der Abrisse bei einzelnen Probanden viel stärker als die durchschnittlichen Daten der beiden ethnischen Gruppen. Die Variabilität der Anzahl der Abrisse bei den



Afrikanern zeigte keine Korrelation mit der Stärke der Pigmentierung. Die gemessene Dicke des Stratum corneum war bei beiden ethnischen Gruppen ähnlich, was auch in anderen Studien bestätigt werden konnte [4]. Die gleiche Dicke bei unterschiedlichen Zellschichten wurde damit erklärt, dass die Schichten des Stratum corneum bei Afrikanern kompakter liegen und besser zusammenhaften [3]. Dieser Studie widersprechen die Daten über das Stratum disjunctum, den oberflächlichen Teil des Stratum corneum. Es enthält ungefähr 3-5 Zellschichten und wird kontinuierlich abgeschilfert. Es wurde bei der ethnischen Gruppe der Afrikaner eine bessere spontane Desquamation nachgewiesen als im Vergleich zu Asiaten und Kaukasiern. Dies bedeutet, dass die oberen Epidermisschichten sich bei Afrikanern leichter ablösen [5]. Darüber hinaus zeigen später erschienene Studien, dass erst nach etwa 100 Abrissen das Stratum corneum komplett entfernt worden ist [6]. Dies sind deutlich mehr Abrisse als in der Studie von Weigand et al., die demnach nur eine Schädigung der Barrierefunktion der Haut verursacht haben, jedoch keine Entfernung des kompletten Stratum corneum. Reed et al. bestätigen dies in ihrer Studie. Sie berichten, dass bei dunkelhäutigen Probanden mehr Abrisse notwendig sind, um die epidermale Barriere zu zerstören [7].

Einige Studien zeigen, dass der Lipidgehalt im Stratum corneum bei Afrikanern größer ist als bei Kaukasiern (Rienertson, 1959 aus Berardesca et al., 2003 [8]). Weigand et al. berichten, dass nach der Lipidentfernung aus dem Stratum corneum kein ethnischer Unterschied mehr nachweisbar war [3].

### **1.1.2 Barrierefunktion**

Eine der Barrierefunktionen der Haut ist der Schutz vor Wasserverlust. Den Wasserverlust kann man mittels Transepidermal-Water-Loss (TEWL)- Sensor messen. Der TEWL beschreibt somit den Zustand des Stratum corneum. Hautirritationen führen zur Schädigung der Barriere. Das Wasser kann dann leichter verdunsten, der TEWL-Wert steigt an [9, 10, 11]. Obwohl die publizierten Daten kontrovers und oft nicht signifikant sind, ist die TEWL-Bestimmung eine beliebte nicht invasive Methode, um die ethnischen Unterschiede in Bezug auf die Hautbarriere zu prüfen.

Der TEWL-Wert zeigt jedoch eine prinzipielle große intra- und interindividuelle Variabilität [1].

In der Studie von Astner et al. wurde ein signifikant kleinerer TEWL-Wert bei Afroamerikanern im Vergleich zu Kaukasiern gemessen. Nach Hautirritation haben sich die TEWL-Werte in beiden ethnischen Gruppen verschlechtert. Bei den kaukasischen Probanden ist der TEWL-Wert jedoch deutlich höher angestiegen als bei den Afroamerikanern, was demzufolge einer schlechteren Barrierefunktion von Kaukasiern entspricht [9]. Im Gegensatz dazu zeigten andere Studien, dass der TEWL-Wert bei Afrikanern bzw. Asiaten signifikant höher ist als bei Kaukasiern [2, 12].

Grimes et al. dagegen haben in ihrer aktuellen Studie keine signifikante Unterschiede zwischen den ethnischen Gruppen für TEWL, pH, Sebum und Hautfeuchte festgestellt [13]. Berardesca et al. haben ebenfalls keine Unterschiede in den pH- und TEWL-Werten auf der Hautoberfläche gefunden. Nach der Anwendung der Abrissmethode und somit der Entfernung der oberflächlichen Schichten des Stratum corneum wurden aber ethnisch unterschiedlichen Daten registriert. Mit der Eindringtiefe wurden der Abfall des pH-Werts und der Anstieg des TEWL-Werts in beiden Gruppen der Kaukasier und der Afroamerikaner gemessen. Die ethnischen Unterschiede zeigten sich nach 3 und 6 Abrissen; der pH-Wert war bei den Afroamerikanern signifikant kleiner als bei den Kaukasiern, der TEWL-Wert größer [14].

### **1.1.3 Irritation**

Eine weitere wichtige Aufgabe der Haut ist der Schutz vor äußeren Einflüssen. Bei der Anwendung von diversen chemischen Stoffen kann es zur Reizung der Haut und zur Abschwächung der Barrierefunktion kommen.

Die Hautirritation bei den ethnischen Gruppen ist ebenfalls ein kontrovers diskutiertes Thema in der Forschung. Durch das Auftragen verschiedener Substanzen auf die Haut werden die Reizantworten geprüft. Verschiedene Publikationen kommen hier zu widersprüchlichen Ergebnissen.

Die Ergebnisse von Rapaport beispielweise zeigen, dass die Haut von Japanern leichter irritierbar ist als die von Kaukasiern [9]. Diese Daten wurden in später erschienenen Studien sowohl bestätigt [15] als auch widerlegt [16, 18].

Laut einiger Studien soll die Haut von Afrikanern den chemischen Reizen besser widerstehen als die Haut von Kaukasiern. Weigand et al. haben die Wirkung von Dinitrochlorbenzol (DNCB) mit Hilfe eines Epikutantests (Patch-Test) untersucht. Sie fanden heraus, dass die Kaukasier eine signifikant kleinere DNCB-Dosis brauchen, um ein minimales Erythem zu entwickeln. [17]. Astner et al. haben in ihrer Studie die Hautirritation mit üblichen Haushaltswaschmitteln getestet und haben eine bessere Barrierefunktion des Stratum corneum bei Afrikanern nachgewiesen [9]. Im Gegensatz hierzu haben Berardeska und Maibach Natriumlaurylsulfat (NLS) in 0,5%iger und 2%iger Konzentration okklusiv und nicht okklusiv aufgetragen. Sie fanden heraus, dass die Haut von Afrikanern bei der 0,5%iger okklusiv aufgetragener NLS eine stärkere Reizantwort zeigt als die von Kaukasiern. Andere Tests, die unter nicht okklusiven Bedingungen durchgeführt wurden, und auch die okklusiven Patch-Tests mit 2%iger NLS zeigten keine ethnischen Unterschiede [10].

Viele publizierte Ergebnisse basieren auf visuell erhobenen Daten [9, 15, 16, 17]. In Testscores wird die Reizantwort durch Rötung der Haut beurteilt. Diese Methode ist nur bedingt geeignet, da sich die Ausprägung der Rötung bei den Hauttypen I bis VI unterscheidet. Es ist schwer, eine leichte Reizreaktion auf sehr dunkler Haut zu beurteilen. Die Einschätzung der Reizantwort hängt außerdem stark von der Erfahrung des Untersuchers ab.

In letzter Zeit nahmen einige Autoren objektive Testverfahren zu Hilfe. Wie oben erwähnt, wird durch die Irritation des Stratum corneum die Barrierefunktion der Haut geschädigt. Dies kann man zum Beispiel durch die Veränderung des TEWL-Wertes und der Hautfeuchte nachweisen [9, 10, 11]. Darüber hinaus werden auch andere objektive Tests angewendet: Laser Doppler Strömungsanalyse (LDV, Laser Doppler Velocimetry) [10, 11, 19], Confocal Reflection Microscopy [9]. Jedoch auch mit diesen Methoden kommen die Untersucher teilweise zu kontroversen Ergebnissen.

#### **1.1.4 Oberflächliche Hautstruktur**

Die sichtbare Oberflächenstruktur der Haut wird von Strukturen der Dermis und des subkutanen Gewebes bestimmt. Für die Reißfestigkeit und Elastizität der Haut ist fast ausschließlich die retikuläre Dermis verantwortlich. Dadurch bietet die Haut Schutz vor mechanischen Belastungen. Das oberflächliche Netzwerk der Furchen ist je nach Körperstelle bei jedem Menschen unterschiedlich stark ausgeprägt und verändert sich im Verlauf des Alterungsprozesses. Der Begriff Falten bezeichnet tiefe, gut sichtbare Gräben in der Oberfläche, die durch eine Schädigung der Kollagen- und Elastizitätsfasern des Muskel- und Bindegewebes verursacht werden [20].

Auf die oberflächliche Hautstruktur wirken verschiedene Faktoren des Lebensstils wie zum Beispiel die Ernährungsgewohnheiten, Umweltbedingungen, Anwendung von Hautpflegeprodukten und viele andere. Als weiteres Beispiel sei der Einfluss der Sonnenstrahlen auf die Hautstruktur genannt. Es wurde nachgewiesen, dass hohe Dosen der UV-Strahlung zur Produktion von toxischen freien Radikalen in der Haut führen. Die Radikale und reaktive Sauerstoffmoleküle schädigen die DNA und wirken negativ auf die Bindegewebeproduktion. Das führt zu Problemen bei der Erneuerung der Kollagen- und Elastizitätsfasern. Die Folgen sind die Veränderung der Hautoberfläche und die Entstehung von Falten [21, 22].

Für die Analyse der oberflächlichen Hautstruktur werden häufig visuelle Test-Scores angewendet. Mit dieser Methode untersucht man die Gesichtsfalten. Nouveau-Richard et al. haben ethnische Unterschiede in der Entstehung und Menge von Gesichtsfalten bei französischen und chinesischen Frauen festgestellt [23]. In einer anderen Studie wurden kaukasische Frauen und Japanerinnen verglichen. Es wurde gezeigt, dass bei Kaukasierinnen die Gesichtsfalten früher auftreten und ausgeprägter sind als bei Japanerinnen [24].

In letzter Zeit wurde für die Messung der Hautrauigkeit eine neue Methode entwickelt. Es handelt sich um ein kontaktloses objektives Messverfahren. Mit dem Primos®-Profilmesssystem werden dreidimensionale Profile der Hautoberflächenstruktur erstellt und analysiert. Eine Studie, in der mit dem Primos®-Profilmesssystem Messungen bei den ethnischen Gruppen durchgeführt wurden, erschien im Jahr 2009. Fujimura et al. haben in ihrer Studie sowohl die visuellen

Scores als auch das Primos®-Profilmesssystem angewendet. Es wurden die Augenfalten bei deutschen, japanischen und chinesischen Frauen in den Altersgruppen von 10 bis 60 Jahren untersucht. Im Ergebnis wurde festgestellt, dass das Primos®-Profilmesssystem mehr signifikante Unterschiede aufdeckt als die visuellen Testscores. Zudem wurde berichtet, dass in fast allen Altersgruppen die Augenfalten bei deutschen und chinesischen Frauen deutlich ausgeprägter waren als bei den japanischen Probandinnen. Die Messungen am Unterlid zeigten, dass bei deutschen Frauen die Faltentiefe am größten war [25].

### **1.1.5 Antioxidantien in der Haut**

Die Antioxidantien in der Haut neutralisieren die toxischen freien Radikale und verhindern deren oxidative schädigende Wirkung. Die freien Radikale reagieren mit allen biologischen Molekülen des Körpers. Dies sind die aktiven Atome oder Moleküle:  $O_2$ ,  $OH^-$ ,  $O_2^-$  und Peroxidradikale [26]. Das Gleichgewicht zwischen oxidativen und nicht oxidativen Prozessen minimiert die negative Wirkung der freien Radikale auf die Moleküle. Diese Balance kann sich durch verschiedene Stressfaktoren wie z. B. die negative Wirkung der Umwelt und metabolische Prozesse verändern. Wie bereits erwähnt, führen unter anderem hohe Dosen an UV-Strahlung zu vermehrter Produktion von freien Radikalen in der Haut und zur Hautalterung. Der menschliche Körper hat natürliche Schutzmechanismen gegen diese reaktiven Moleküle entwickelt. Antioxidantien wie Karotinoide und Vitamine befinden sich in der Haut und verhindern die schädigende Wirkung von freien Radikalen. Die Karotinoide sind eine wichtige Gruppe innerhalb der Antioxidantien. Ihre neutralisierende Wirkung auf die reaktiven Moleküle ist sehr stark [27]. Die Karotinoide können vom Menschen nicht selbst synthetisiert werden, sondern werden mit der Nahrung aufgenommen. Die wichtigsten Karotinoide der Haut sind Lykopen und  $\beta$ -Karotin. Sie machen 70% aller Karotinoide aus [28].

Es wurde zudem gezeigt, dass zwischen dem Karotinoidgehalt der Haut und der Hautrauhigkeit ein Zusammenhang besteht. Je höher der Antioxidantienspiegel ist, desto geringer ist die Hautrauhigkeit, gekennzeichnet durch Faltendichte und -tiefe [29]. Die Antioxidantien werden direkt und nicht invasiv mit Hilfe der Raman-

Spektroskopie in der Haut gemessen [30]. Da die Methode der Antioxidantienbestimmung in der Haut neu ist, gibt es bis jetzt keine Studien, die ethnische Unterschiede verglichen haben.

### **1.1.6 Melaningehalt und -verteilung**

Die Hautfarbe wird vor allem durch die Pigmentierung bestimmt. Der Melaningehalt und die Zusammensetzung sind für die ethnische Hautfarbe verantwortlich. Dunkler pigmentierte Haut enthält mehr Melanin. Das Melanin bei hellhäutigen ethnischen Gruppen setzt sich vornehmlich aus einem weniger pigmentierten Melanintyp, dem Pheomelanin (rotes Melanin) und dem Eumelanin zusammen [31]. Bei den ethnischen Gruppen mit dem dunklen Farbton überwiegt das Eumelanin (schwarzes Melanin). Der UV-Schutz wird sowohl durch die Melaninmenge als auch durch die Verteilung von Melanosomen in der Epidermis realisiert. Das Melanin funktioniert wie ein Filter, indem es die Absorption und Ablenkung der UV-Strahlen in der Haut gewährleistet. Es wurde gezeigt, dass im Durchschnitt bei Kaukasiern fünfmal mehr UV-Licht die obere Dermis erreicht als bei Afrikanern. Bei Kaukasiern befindet sich der UV Filter hauptsächlich im Stratum corneum, bei Afrikanern in Stratum basale und spinosum [32].

Die Melanozyten synthetisieren und speichern das Hautpigment Melanin in den Melanosomen und geben die Melanosomen auch an die benachbarten Keratinozyten ab. Die Melanozyten sind in der Basalschicht der Epidermis, in der äußeren Wurzelscheide und im Bulbus des Haarfollikels lokalisiert. Ihre Dichte ist individuell sehr stark variabel. Wenn man die ethnischen Hauttypen von I bis VI vergleicht, ist die Melanozytenmenge an sich konstant. Die Unterschiede liegen in Größe, Menge und Gruppierung der Melanosomen innerhalb der Melanozyten und Keratinozyten [33].

Die Melanosomengröße ändert sich abhängig vom Körperareal. Auf den sonnenexponierten Hautarealen nimmt sie zu. Im Verlauf vom hellen kaukasischen bis zum dunklen afrikanischen Hauttyp beobachtet man einen signifikanten Größenanstieg [31]. Die Verteilung der Melanosomen zeigt, dass sich bei den hellhäutigen ethnischen Gruppen die Melanosomen größtenteils im Stratum corneum befinden. In der

afrikanischen Gruppe waren sie in den Basalschichten der Epidermis nachweisbar [34].

## **1.2 Transepidermale Penetration**

Die Penetration von verschiedenen Substanzen in und durch die Haut wird für die Wirkstoffapplikation in der Medizin und Kosmetikpflege häufig genutzt. Die transepidermale Absorption ist die passive Diffusion von applizierten Substanzen durch Epidermis, Dermis und letztendlich gefolgt von der Aufnahme in die Blutzirkulation.

Die Menschen zeigen individuelle Unterschiede in der Penetration. Da die Hautstruktur und Funktion ethnische Besonderheiten aufweist, wurde die Penetration bei verschiedenen ethnischen Gruppen verglichen. Die publizierten Daten sind wiederum häufig kontrovers.

Guy et al. [19] haben die transepidermale Absorption von Methylnicotinat bei verschiedenen ethnischen Gruppen untersucht. Methylnicotinat wurde auf den Arm von jeweils sechs Afrikanern und sechs Kaukasiern appliziert. Anschließend wurden die Gefäßdilatation und mit Hilfe der Laser Doppler Velocimetry (LDV, Laser Doppler Strömungsanalyse) die Blutgeschwindigkeit gemessen. Es wurden keine ethnischen Unterschiede bezüglich der Absorptionszeit und der epitelialen Blutgeschwindigkeit nachgewiesen [19].

Kompaore et al. verwendeten ebenfalls LDV und Methylnicotinat in ihren Experimenten, um die Absorption bei drei ethnischen Gruppen (acht Kaukasier, sieben Afrikaner und sechs Asiaten) zu vergleichen. Hierbei wurden im Gegensatz zu den Ergebnissen von Guy signifikante Unterschiede nachgewiesen. Bei den Asiaten und Kaukasiern penetrierte die Substanz deutlich schneller durch die Hautbarriere als bei den Afrikanern [2].

Ähnliche Ergebnisse wurden von Berardeska und Maibach publiziert, die die Blutgeschwindigkeit nach der Applikation von Methylnicotinat aber auch von Hexylnicotinat mit Hilfe der LDV untersuchten. Beide Substanzen wurden auf den Rücken von zehn Afrikanern und neun Kaukasiern aufgetragen. Die Ergebnisse zeigten eine niedrigere pharmakologische Antwort bei den Afrikanern [35]. Lotte et al.

applizierten die Wirkstoffe Benzoesäure, Koffein und ASS auf die Haut. Nach 30 Minuten und nochmals nach vier Tagen wurden Urinproben und das Stratum corneum untersucht. Zwar zeigten die Kaukasier und die Asiaten die besseren Penetrationswerte im Vergleich zu der afrikanischen Gruppe, signifikante Unterschiede zwischen den drei ethnischen Gruppen wurden jedoch nicht festgestellt [36]. Nach der Applikation von radiomarkierten Dipyrrithionen auf Stirn, Kopfhaut und Unterarm bei jeweils vier Afrikanern und Kaukasiern untersuchten Wedig und Maibach die Urinproben über sieben Tage hinweg. Die Ergebnisse zeigten, dass die afrikanischen Probanden 34% weniger absorbiert haben als die Kaukasier. Allerdings geben die Autoren zu, dass die Urinsammlung nicht komplett war und durch bereits publizierte Daten für intravenöse Studien ergänzt worden sind [37]. Nach der In-vitro-Applikation von Fluocinoloneacetoniden wurde bei Kaukasiern eine höhere Permeabilität nachgewiesen als bei Afrikanern [38]. Für die Wasserpermeabilität durch die Haut wurden keine ethnischen Unterschiede aufgezeigt [39].

Für die interzelluläre Hautpenetration sind die Lipidschichten des Stratum corneum von besonderer Bedeutung [1]. Die Hautanhangsgebilde, speziell die Haarfollikel, stellen Einstülpungen der Epidermis dar. Es wurde angenommen, dass sie am Penetrationsprozess teilnehmen, da mit der Dichte der Hautanhangsgebilde die Penetration steigt [40]. Allerdings wurde den Hautanhangsgebilden, zu denen die Schweißdrüsen, Haarfollikel und Talgdrüsen zählen, zunächst nicht mehr als 0,1% der Gesamthautoberfläche zugeschrieben [1]. Deshalb wurde ihr Einfluss lange Zeit nicht berücksichtigt.

Die Schweißdrüsen sind in der Haut am häufigsten vorhanden. Es liegen aber keine Daten vor, die ihre Teilnahme an Absorption und Penetration beweisen.

Die Haarfollikel und die Talgdrüsen wecken das Interesse im Zusammenhang mit der Lokalthherapie z. B. von Akne und Alopezie. Darüber hinaus werden die Haarfollikel als Transportshunts betrachtet, die bei topischer Applikation einer Substanz eine systemische Wirkung ermöglichen. Viele in letzter Zeit veröffentlichte Studien zeigen, dass die Haarfollikel für die Penetration von Bedeutung sind [41-45].

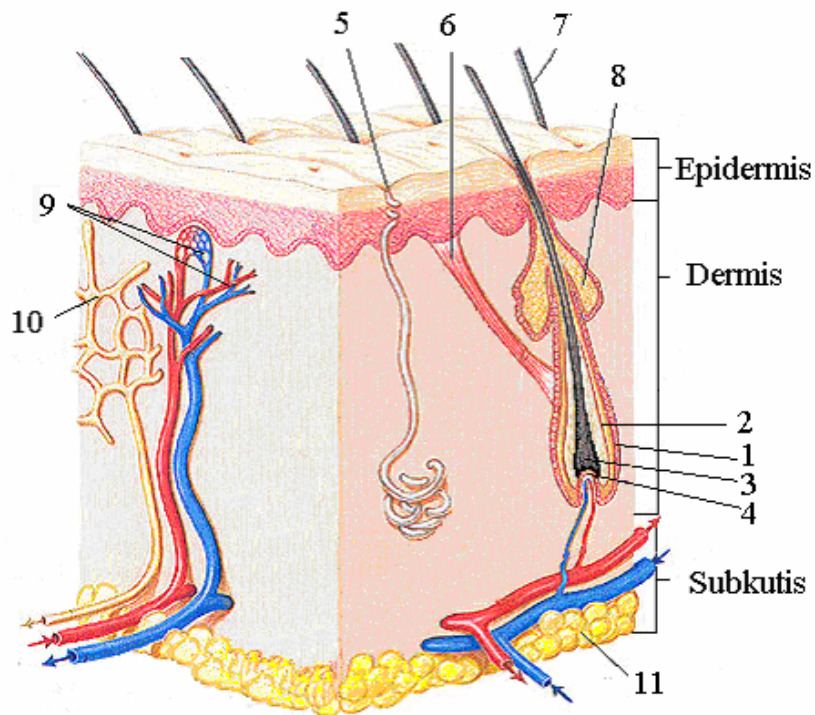


### 1.3 Haarfollikel

Der Haarfollikel ist Bestandteil einer komplexen Struktur, der Haartalgdrüseneinheit. Diese Einheit besteht aus Haarschaft, Haarbulbus, M. arrector pili und Talgdrüse (Abb. 1). Der Haarschaft ist von inneren und äußeren Haarwurzelscheiden umgeben. Der M. arrector pili besteht aus glatten Muskelfasern und ist mit der Bindegewebsscheide des Haares verbunden. Die Talgdrüse, glandula sebacea, hat keinen eigenen Ausführungsgang und mündet im oberen Teil des Haarfollikels. Sie produziert Lipide, welche auf dem Haar in Richtung der Hautoberfläche transportiert werden. Der Talg besteht aus Fettsäuren, Triglyceriden und Wachsestern. Der Duktus der Talgdrüse liegt ca. 0,5 mm unter der Haut. Ab hier verliert sich die äußere Wurzelscheide. Diesen oberen Teil des Follikels bezeichnet man bis zur Mündung der Talgdrüse als Infundibulum. Die Haarpapille enthält Kapillargefäße und Nervenendigungen. Sie reichen bis zu den Haarmatrixzellen [1].

Der sichtbare Haarschaft des Terminalhaarfollikels besteht aus 3 Schichten: Wurzelrinde, Kutikula und Mark. Das zentral liegende Mark ist aus großen polygonalen Zellen aufgebaut. Um das Mark herum bildet die Wurzelrinde eine Schicht von verhornten, längsorientierten Zellen. Nach Ende der Differenzierung sind die Zellen mit Keratinfilamenten gefüllt. Die Wurzelrinde beinhaltet auch die Melanosomen, welche für die Haarfarbe verantwortlich sind. Die äußere dünne Schicht ist die Kutikula, die aus mehreren Korneozytenschichten besteht [46].

Die Haarwurzel ist der in der Haut liegende Teil des Haarfollikels. Sie besteht aus mehreren mesenchymalen und epithelialen Zellschichten, welche mehr als 20 verschiedene Zellpopulationen umfassen [46]. In der Basis der Haarpapille befinden sich die Stammzellen, die für den kontinuierlichen Haarzyklus verantwortlich sind. In letzter Zeit wurden diese Zellen genauer untersucht und als Zielgruppe für die Gentherapie benutzt [47]. Aus den Stammzellen differenzieren sich der Haarschaft und die innere Wurzelscheide. Sie sind von der äußeren Wurzelscheide umgeben. Diese besteht aus mehreren Schichten der Plattenepithelzellen, die in die Epidermis übergehen und von der Basalmembran begrenzt werden.



modifiziert nach [www.narmet.ru/stroenie-organizma/kozha/](http://www.narmet.ru/stroenie-organizma/kozha/)

Abb. 1 Hautaufbau und Aufbau des Haarfollikels: 1. Haarfollikel, 2. Wurzelscheiden, 3. Haarmark, 4. dermale Haarpapille, 5. Ausführungsgang der Schweißdrüse, 6. Muskel arrector pili, 7. Haarschaft, 8. Talgdrüse, 9. Blutkapillare, 10. Lymphkapillare, 11. Subkutanes Fettgewebe

### 1.3.1 Haarfollikeltypen

Haare und Haarfollikel finden sich fast auf der gesamten Körperoberfläche, außer an den Fußsohlen und Handflächen. Je nach Länge, Durchmesser und Pigmentierung werden Lanugo-, Vellus- und Terminalhaare unterschieden. Die Haartypen können ineinander übergehen, sie verändern ihre Größe und Wachstum über die Zeit [46].

#### *Lanugohaare*

Die Lanugohaare sind fein, weich und wenig pigmentiert. Sie haben kein Mark und werden intrauterin gebildet. Die Lanugohaare wachsen aus den sich entwickelnden Haarfollikeln [46]. Sie werden dann durch die Vellushaare ersetzt, was als Geburtsreifezeichen gewertet wird.

### *Vellushaare*

Die Vellushaare sind ebenfalls fein, marklos und kaum pigmentiert. Sie reichen weniger als 1 mm in die Tiefe der Dermis [1]. Die zarten Vellushaare sind kurz (höchstens ein oder zwei cm) und dünn ( $<30\mu\text{m}$  im Durchmesser). Sie wachsen lebenslang. Sogar auf der Kopfhautregion, wo man nur Terminalhaare erwarten würde, machen die Vellushaare 7-25% aus [46]. Manchmal sind Vellushaare und Terminalhaare zu Follikel-einheiten zusammengewachsen [48].

### *Intermediäre Haare*

Manche Haare lassen sich nicht einem bestimmten Typ zuordnen. Dies sind sogenannte intermediäre Haare. Ihre Größe liegt zwischen der von Vellus- und Terminalhaaren.

### *Terminalhaare*

Die Terminalhaare findet man auf der Kopfhaut. Nach der Pubertät entstehen die Terminalhaare unter hormonellem Einfluss in den Axillen, der Genitalregion, sowie an den Extremitäten und am Stamm. Diese Haare sind markhaltig. Sie sind makroskopisch länger als Vellushaare, dicker als  $60\mu\text{m}$  im Durchmesser und pigmentiert [46]. Sie reichen tiefer als 3 mm somit bis ins subkutane Fettgewebe [1]. Bei Erwachsenen findet man auf der Kopfhaut neben vielen Terminalhaaren auch Vellushaare. Sie liegen häufig in den s.g. Follikelunits, Follikel-einheiten, zusammen [46, 48].

## **1.3.2 Haarfollikelzyklus**

In jedem Haarfollikel laufen die Phasen des Wachstums, des Übergangs und der Ruhephase ab. Diesen Vorgang bezeichnet man als Haarzyklus. Der Haarzyklus wiederholt sich kontinuierlich.

Während der Anagenphase, der aktiven Wachstumsphase, teilen sich die Zellen rund um die Haarpapille schnell und formen den Haarschaft. In der Anagenphase findet nicht nur das Haarwachstum statt. Alle Zellen des Haarfollikels zeigen eine sehr hohe Aktivität in allen epithelialen Schichten, besonders die Matrixzellen. Die Dauer der Anagenphase ist abhängig von der Follikelgröße und der Lokalisation auf dem Körper. Das Haarwachstum kann mehrere Jahre dauern, so wie bei Terminalhaarfollikeln auf

dem Kopf. Die Anagenphase kann auch nur wenige Wochen betragen, zum Beispiel bei Terminalhaarfollikeln an den Extremitäten. In der nachfolgenden Katagenphase sinkt die Protein- und Pigmentproduktion. Die extrazelluläre Substanz verändert sich. Der Haarfollikel zeigt massive Apoptose und fibrotischen Umbau. Die Haarpapille wird atrophisch. Danach kommt der Haarfollikel in die Ruhe- oder Telogenphase. Der Follikel ist auf die Hälfte seiner ursprünglichen Größe geschrumpft. Die epithelialen Zellen zeigen keine DNA- oder RNA-Synthese. Das Telogenhaar kann noch Monate in diesem Zustand bleiben. Der Zyklus fängt wieder mit einer neuen Anagenphase an: der Haarfollikel regeneriert sich, Matrixzellen beginnen erneut, sich zu teilen. Die Haarzahl am Kopf variiert individuell zwischen 90.000 und 150.000. Hiervon befinden sich im Durchschnitt 85% in der Anagenphase und 15% in der Telogenphase [46].

### **1.3.3 Ethnische Haarunterschiede**

Die ethnischen Haarunterschiede zeigen sich in Haardurchmesser und Form, Zugfestigkeit und Widerstandsfähigkeit, Haardichte und Wachstumsgeschwindigkeit. Die Haare des asiatischen Hauttyps haben den größten Haarquerschnitt (von 70 bis 86  $\mu\text{m}$ ) und eine kreisrunde Form. Das afrikanische Haar unterscheidet sich vom kaukasischen und vom asiatischen Haar durch seine elliptische Form und einen sehr variablen Querschnitt. Der Haardurchmesser bei Afrikanern reicht von 55 bis 98  $\mu\text{m}$  und stellt somit den kleinsten und den größten Diameter unter den drei ethnischen Gruppen dar. Der Haardurchmesser von Kaukasiern ist kleiner als der von Asiaten, und beträgt 60 bis 80  $\mu\text{m}$ . Die Haarform liegt zwischen den anderen beiden ethnischen Gruppen, nicht rund, aber auch nicht zu sehr elliptisch [49].

Die mechanischen Eigenschaften wurden hinsichtlich Bruch- und Dehnungsfestigkeit untersucht. Die afrikanischen Haare sind fragiler und brechen schneller als kaukasische und asiatische. Letztere sind stärker und widerstandsfähiger. Obwohl die asiatischen Haare einen größeren Durchmesser und somit eine höhere Dehnungskraft als die kaukasischen besitzen, weisen die beiden ethnischen Gruppen keine Unterschiede auf [49].

Loussouarn et al. haben das Haarwachstum auf dem Kopf bei den drei ethnischen Gruppen untersucht. Es wurde festgestellt, dass die Haare von Asiaten mit 1,29 cm/Monat signifikant schneller wachsen als die von Kaukasiern und Afrikanern. Die Afrikaner zeigten mit 0,85 cm/Monat das langsamste Haarwachstum von allen. Dazwischen liegen die Kaukasier mit 1,09 cm/Monat. Darüber hinaus finden sich bei Afrikanern mit 14% mehr Telogenhaare im Vergleich zu Kaukasiern (12%) und Asiaten (12%) [50, 51].

#### **1.3.4 Follikeldichte an den verschiedenen Körperregionen und ethnische Unterschiede**

Alle Haarfollikel werden in der Embryonalperiode angelegt. Nach der Geburt entstehen keine neuen Follikel mehr. Mit fortschreitendem Alter ändert sich die Follikelverteilung auf dem Körper so, dass regionale Unterschiede in der Follikeldichte entstehen. Beim Neugeborenen ist die Hautoberfläche viel kleiner, demzufolge liegen die Haarfollikel sehr dicht zusammen. Mit dem Körperwachstum muss sich die gleiche Anzahl von Haarfollikeln über die gesamte Hautoberfläche verteilen. Verschiedene Körperteile haben ein unterschiedliches Wachstum und werden ungleich groß. Der Kopf wächst kaum im Vergleich zu den Extremitäten. Infolgedessen entstehen regionale Schwankungen in der Follikeldichte. Deshalb verbleibt bei Erwachsenen eine relativ hohe Follikeldichte auf dem Kopf und sinkt stark ab auf Unterarmen und Waden [46].

Auf der Kopfhaut und in der Gesichtsregion ist die Follikeldichte am größten. An Handflächen und Fußsohlen gibt es keine Haarfollikel. Auf der Kopfhaut finden sich sowohl die langen Terminalhaare als auch feine Vellushaare. Das durchschnittliche Verhältnis von Terminal- und Vellushaaren beträgt 7:1 [46] bis 9:1 [52].

Eine 4 mm Stanzbiopsie ist ideal für die Untersuchung der Follikelmorphologie und für die Bestimmung der Follikeldichte [52-55]. Horizontale Schnitte in Höhe des Ausführungsgangs der Talgdrüse zeigen, dass die Follikel auf der Kopfhaut in Gruppen zusammenwachsen. Dies sind sogenannte Follikeleinheiten, die aus 1 bis 4 Terminalhaarfollikeln und 1 bis 2 Vellushaarfollikeln bestehen. Kaukasier haben im

Durchschnitt eine Follikeleinheit pro 1 mm<sup>2</sup> und somit mehr als Asiaten mit 0,72/ mm<sup>2</sup> [48].

Vergleicht man die Dichte der Follikel, fällt auf, dass es ethnische Unterschiede gibt. Die Kaukasier haben signifikant mehr Haarfollikel auf der Kopfhaut als Afrikaner [54], und Afrikaner wiederum mehr als Asiaten. Asiaten haben am wenigsten Follikel, im Vergleich zu Kaukasiern sogar weniger als die Hälfte [52-55].

Eine andere Methode zur Bestimmung der Haardichte ist das Phototrichogramm [46, 50, 51]. Im Vergleich zur Stanzbiopsie handelt es sich hierbei um eine nicht invasive Technik, die mehrmals wiederholt werden kann. Das Grundprinzip liegt in der hautnahen Aufnahme von bestimmten Kopfhautregionen. Hierbei werden die Haarfollikel pro cm<sup>2</sup> Fläche gezählt. Die Ergebnisse zeigen die gleichen signifikanten Verteilungsunterschiede zwischen den ethnischen Gruppen: Kaukasier > Afrikaner > Asiaten [48, 51]. Blume et al. untersuchten mit Hilfe des Phototrichogramms die Follikeldichte bei Kaukasiern auf der Stirn und dem Rücken. Die Dichte der Haarfollikel betrug auf der Stirn 414/cm<sup>2</sup> bei Frauen und 432/cm<sup>2</sup> bei Männern, auf dem Rücken 93 und 90/cm<sup>2</sup> [56].

Eine weitere nicht invasive Methode, die Haarfollikeldichte zu untersuchen, ist die Cyanoacrylatbiopsie. Der Cyanoacrylatabriss ist ein genauer Abdruck der Hautoberfläche. Unter dem Mikroskop kann man die Haarfollikel pro cm<sup>2</sup> Fläche zählen. Diese Methode wurde von Pagnoni et al. angewendet zur Bestimmung der Follikeldichte auf den verschiedenen Gesichtsarealen. Es wurden sehr starke regionale Dichteunterschiede festgestellt: von 455 Follikeln/cm<sup>2</sup> an der Stirn bis 1220/cm<sup>2</sup> am Nasenflügel [57].

Otberg et al. haben die Cyanoacrylatabriss-Methode verwendet, um die Follikel auf den verschiedenen Körperarealen zu untersuchen. Sie haben festgestellt, dass Follikeldichte und -größe abhängig von der Lage variieren. Die Dichte ist am höchsten auf der Stirn mit 292 Follikel/cm<sup>2</sup>. Demgegenüber beträgt sie auf der Wade nur 14/cm<sup>2</sup>. Die Follikeldichte auf Rücken, Thorax, Ober- und Unterarm liegt zwischen 18 bis 32 pro cm<sup>2</sup>. Es wurde gezeigt, dass die Follikelöffnungen im Durchschnitt 1,28% der Hautoberfläche auf der Stirn und nur 0,09% auf dem Unterarm ausmachen. Die Werte der Körperareale Rücken, Oberarm und Thorax liegen dazwischen [58]. An den gleichen Stellen haben Mangelsdorf et al. mit der Cyanoacrylatbiopsie die

Haarfollikeldichte bei ethnischen Gruppen verglichen [59]. Wie auf der Kopfhaut wurden auch auf der Stirn ethnische Unterschiede in der Follikeldichte festgestellt. Kaukasier haben signifikant mehr Haarfollikel an der Stirn als Afroamerikaner und Asiaten. An den anderen Körperteilen wurden keine ethnischen Unterschiede nachgewiesen. Vergleicht man die Follikelverteilung auf dem Körper, zeigen alle Hauttypen ungefähr die gleiche Follikeldichteabnahme von den Höchstwerten an der Stirn bis zu den wenigen Follikeln an Unterarm und Wade. Der prozentuale Anteil der Follikelöffnungen an der Hautoberfläche zeigt ethnische Unterschiede an der Stirn und am Unterschenkel. Kaukasier haben signifikant höhere Werte als Asiaten und Afroamerikaner [59].

### **1.3.5 Haarfollikelfläche und Volumen, ethnische Unterschiede**

Die Follikelinfundibula vergrößern durch ihre innere Fläche die gesamte Hautoberfläche. Otberg et al. haben die Haarfollikel auf sieben Hautarealen untersucht: Stirn, Rücken- und Brustregion, Ober- und Unterarm, Schenkel und Wade. Die ausgemessenen Follikelvolumina und -flächen zeigten signifikante regionale Unterschiede. An Stirn und Wade waren die Werte am größten. Die Follikelvolumina betragen an der Stirn im Durchschnitt  $0,19 \text{ mm}^3/\text{cm}^2$  im Vergleich zu dem kleinsten gemessenen Follikelvolumen am Unterarm mit  $0,01 \text{ mm}^3/\text{cm}^2$  [58]. Anschließend wurde die Follikelinnenfläche bestimmt. Sie ist wichtig für die Penetration, weil sie die hierfür zur Verfügung stehende Hautoberfläche erweitert. Die Infundibulumfläche an der Stirn betrug  $13,7 \text{ mm}^2$ . Das bedeutet, dass die Haarfollikel durch ihre innere Fläche die gesamte Hautoberfläche bis zur 13,7% vergrößern. Dies ist etwa zehnmal mehr als der Anteil der Follikelöffnung an der Hautoberfläche [58]. Dieses Ergebnis widerlegt die früher den Hautanhangsgebilden zugeteilten 0,1% und weckt das Interesse der Wissenschaft an der Follikelpenetration. Allerdings ist die gemessene Fläche mit dem wirklichen Follikelbeitrag zur Penetration nicht gleichzusetzen, da das Infundibulum teilweise mit Talg und abgeschilferten Epithelien ausgefüllt ist. Bei den anderen ethnischen Gruppen wurden ebenfalls Follikelvolumina und -größe untersucht. Es stellte sich heraus, dass die Kaukasier im Vergleich zu Afroamerikanern und Asiaten insgesamt größere Follikelvolumina besitzen. Bei allen drei ethnischen

Gruppen wurde der größte Volumenwert an der Stirn gemessen und der kleinste am Unterarm. Der signifikante Unterschied bezüglich des Volumens war auf der Wade festzustellen mit  $0,18 \text{ mm}^3/\text{cm}^2$  bei Kaukasiern im Vergleich zu  $0,03 \text{ mm}^3/\text{cm}^2$  und  $0,01 \text{ mm}^3/\text{cm}^2$  bei den anderen beiden Hauttypen.

Vergleicht man die Infundibulumfläche der Follikel bei den drei ethnischen Gruppen, sieht man auch, dass die Kaukasier an allen Körperregionen größere Werte zeigen als Afroamerikaner und Asiaten. Die größte Follikelfläche wurde bei allen drei Hauttypen auf der Stirn gemessen. Der signifikante Unterschied wurde an der Wade gefunden mit  $5,4 \text{ mm}^2$  bei Kaukasiern,  $0,99 \text{ mm}^2$  bei Afroamerikanern und  $0,7 \text{ mm}^2$  bei Asiaten [59].

#### **1.4 Haarfollikelpenetration**

Wie bereits erwähnt, sind die Haarfollikel für die Penetration von großer Bedeutung. Die Haarfollikel sind Einstülpungen der Epidermis, wodurch die Hautoberfläche vergrößert wird. Vor längerer Zeit wurde beobachtet, dass die Absorption von topisch applizierten Substanzen mit der Follikeldichte ansteigt [40]. Tenjarla et al. haben Steroide auf follikelfreie Narbenhaut und auf gesunde Haut appliziert. Dabei wurden für die Haut, die Follikel enthielt, signifikant höhere Penetrationswerte gemessen [60]. In einer anderen Studie wurden für eine vergleichende Penetration zwei Körperregionen ausgewählt, in denen sich die Follikeldichte stark unterschied: Abdomen und Kopfhaut. Im Bereich der Kopfhaut mit der höheren Follikeldichte zeigte sich eine deutlich stärkere Penetration im Vergleich zur Abdominalhaut [44]. Essa et al. haben in ihrem Experiment ein in-vitro-Modell benutzt. Mittels einer Stratum corneum/Epidermis-Sandwich-Methode wurden die Follikelöffnungen geblockt. Infolgedessen sank die Absorptionsrate deutlich [41].

Später wurden quantitative Methoden entwickelt, um den tatsächlichen follikulären Penetrationsanteil zu bestimmen. Otberg et al. blockierten die Haarfollikel von Probanden mit einer Wachs-Lack-Mischung und verglichen die Penetration einer Koffeinelösung mit der Penetration durch unbehandelte Haut. Die Ergebnisse zeigten eine signifikant schnellere Penetration des Koffeins ins Blut, wenn die Follikel offen waren [61].



Teichmann et al. haben ferner gezeigt, dass 30 min nach Applikation einer farbstoffhaltigen Substanz sich etwa 5% davon in den Haarfollikeln und 95% im Stratum corneum befinden [45]. Einer anderen Studie zufolge wurde die applizierte Substanz nach 30 min Einwirkungsdauer in den Haarfollikeln in einer achtmal geringeren Konzentration als im Stratum corneum gemessen [62].

Darüber hinaus hat man festgestellt, dass topisch applizierte Substanzen in den Haarfollikeln länger als im Stratum corneum gespeichert werden können. Lademann et al. haben die Verteilung von partikulären Substanzen untersucht. Nach einem Tag war die applizierte Substanz im Stratum corneum nur noch zu einem geringeren Teil nachweisbar, demgegenüber war sie in den Follikeln sogar nach zehn Tagen noch vorhanden. Durch die Eigenbewegung der Haare wurden die Partikel vermutlich tief in die Haarfollikel hineinbefördert [62].

#### **1.4.1 Offene und geschlossene Follikel**

Ferner wurde gezeigt, dass es aktive und inaktive Haarfollikel gibt. Nach der Beurteilung des Haarwachstums und der Talgproduktion wurden die Follikel in Gruppen aufgeteilt. Die aktiven Follikel zeigten Haarwachstum und/oder Talgproduktion, die inaktiven wiesen keinen der beiden Parameter auf. Nach Applikation eines Farbstoffes konnte gezeigt werden, dass die Substanz nur in die aktiven Follikel hinein penetrierte. Diese Follikel wurden als „offen“ bezeichnet. Die anderen, die keine Aktivität gezeigt und keinen Farbstoff gespeichert hatten, wurden als „geschlossene“ Follikel bezeichnet [63]. Das heißt, dass die follikuläre Penetration nicht nur von der Größe der Follikel, sondern auch vom prozentualen Anteil offener und geschlossener Haarfollikel abhängt. Die geschlossenen Follikel können mittels mechanischer Abtragung der oberen Epidermisschichten (z.B. Peeling) geöffnet werden [63].

## 1.5 Methoden zur Untersuchung der Follikelpenetration

Es gibt unterschiedliche Methoden, um die interzelluläre Hautpenetration zu untersuchen, z.B. die Hautabriss-Methode, wenn das Stratum corneum Schicht für Schicht entfernt und analysiert wird, die Laser-Scan-Mikroskopie, womit die Verteilung der applizierten Substanz in den Hautschichten dargestellt wird [65, 66, 74]. Die Schwierigkeit besteht jedoch darin, eine quantitative Methode zu entwickeln, um selektiv auch die follikuläre Penetration zu untersuchen. Im Idealfall braucht man eine normale Haut mit Haarfollikeln und eine vergleichbare Haut, die keine Follikel aufweist. Da dies nicht möglich ist, versucht man die follikuläre Penetration mit verschiedenen Modellen zu bestimmen.

Prinzipiell kann man zwischen In-vitro- und In-vivo-Studienmodellen unterscheiden. Für In-vitro-Studien wird entweder Spenderhaut oder Tierhaut eingesetzt.

Das bekannte Hautsandwich-Modell ist ein Beispiel für ein In-vitro-Modell. Diese Methode erlaubt die Quantifizierung des follikulären Einflusses. Für den Versuch werden die Epidermis und eine zusätzliche Schicht des Stratum corneum desselben Spenders benutzt. Auf die Epidermis wird die zweite Schicht des Stratum corneum so aufgelegt, dass die Barrierschicht sich nun verdoppelt. Die Follikelöffnungen der beiden Strata cornea können durch Überlappung so an der Penetration nicht mehr teilnehmen [64]. Die applizierte Substanz penetriert durch die Epidermisschichten hindurch. Die Penetrationszeit ist abhängig von deren Dicke. Sind die Haarfollikel für die Penetration nicht von Bedeutung, so wird sich nach einer Substanzapplikation auf die Doppelschicht des Stratum corneum die Penetrationszeit verdoppeln. Anderenfalls wird die Einschichtpenetration durch den Follikeleinfluss deutlich weniger Zeit brauchen, als die Doppelschichtpenetration. Somit ist es möglich, den follikulären Einfluss zu berechnen [64].

Getestet wurde die lipophile Substanz Östradiol. Der gemessene follikuläre Beitrag war gering [64]. Daraufhin folgten weitere Sandwich-Untersuchungen, welche die Penetration von Östradiol mit der hydrophilen Substanz Mannitol verglichen. Im Gegensatz zu Östradiol penetriert Mannitol initial fast ausschließlich über die Haarfollikel [41].

Die meisten in-vivo durchgeführten Studien weisen die folliculäre Penetration direkt in den Haarfollikeln oder durch Bluttests nach. Wie in Kapitel 1.4 bereits erwähnt, haben Otberg et al. die Koffeinpenetration durch die Haut untersucht. Um den folliculären Anteil zu bestimmen, wurde die Penetrationssubstanz vor und nach der Follikelblockade im Blut getestet. Die Daten zeigten einen signifikanten Follikelbeitrag zur Penetration [61].

Der direkte Substanznachweis in den Haarfollikeln ist mit der Methode des differentiellen Strippings möglich. Nach Applikation einer Substanz auf die Haut wird zuerst das Stratum corneum mittels der Abrissmethode entfernt. Anschließend wird an der gleichen Stelle eine Cyanoacrylatbiopsie durchgeführt, welche den folliculären Inhalt entfernt. Die Menge der penetrierten Substanz kann so bestimmt werden [45].

Eine invasive Methode, die ebenfalls den direkten Nachweis der applizierten Substanz ermöglicht, ist die histologische Untersuchung der Hautschnitte. Lademann et al. haben mit dieser Methode die Penetration von Titandioxidmikropartikeln in die oberflächliche Hautschichten und in die Haarfollikel erforscht [43].

In letzter Zeit wurden neue visuelle Ansätze entwickelt. Alvarez-Roman und Grams et al. haben für die Follikelpenetrationsanalyse die konfokale Laser-Scan-Mikroskopie eingesetzt (CLSM). Mit CLSM kann man die Verteilung der applizierten Substanz in den Hautschichten und den Haarfollikeln nicht invasiv darstellen. Die CLSM zeichnet sich vor allem durch eine sehr hohe Auflösung und Kontrastierung der Aufnahmen aus. Andere Vorteile der CLSM sind: Durchführung von Untersuchungen in-vivo, kurzzeitige Dauer der Aufnahmen und Möglichkeit der multiplen Aufnahmen, die in unterschiedlicher Tiefe parallel zu der Hautoberfläche gemacht werden [65, 66].

Andere Studien benutzten für die Penetrationsuntersuchungen follicelfreie Hautmodelle und vergleichen sie mit der normalen Hautpenetration. Als follicelfreie Haut wurde Haut von neugeborenen Ratten und Narbenhaut verwendet [1, 60, 67]. Vor allem die Narbenhaut ist nicht mit einer Normalhaut gleichzusetzen. Sie hat nicht dieselbe Oberflächenstruktur und Barriererefunktion. Auch die Haut von neugeborenen Ratten ist der menschlichen Haut nicht gleichzusetzen.

## 1.6 Zielsetzung und Fragestellung

Die umfangreiche Literaturrecherche über bereits untersuchte ethnische Unterschiede in der Hautphysiologie und -struktur ergab häufig kontroverse Daten. Besonders die Studien, welche die Barrierefunktion der Haut bei den ethnischen Gruppen verglichen haben, zeigen eine Vielfalt an Ergebnissen.

Unter den Studien, die ethnische Hautunterschiede nachweisen konnten, sind die Ergebnisse von Mangelsdorf et al. besonders interessant. Hier wurden die Haarfollikel von Asiaten, Kaukasiern und Afrikanern verglichen. Es wurde gezeigt, dass Follikeldichte und -größe in Abhängigkeit vom Körperareal sich bei den drei ethnischen Gruppen deutlich unterscheiden [59]. Die Haarfollikel sind deshalb von so großer Bedeutung, da sie bei der Hautpenetration eine wichtige Rolle spielen. Wirkstoffaufnahme in und durch die Haut erfolgt im Wesentlichen auf zwei Wegen: Erstens über den interzellulären Penetrationsweg entlang der Lipidschicht und zweitens über die Hautanhangsgebilde [42, 45, 61, 62, 69]. Die Haarfollikel als Anhangsgebilde durchbrechen die Epidermis und reichen bis tief in die Subkutis und sind zusätzlich von Blutgefäßen umgeben. Man geht davon aus, dass applizierte Substanzen dadurch leichter und schneller ins Blut übergehen [61]. Ethnische Unterschiede in der Follikelpenetration wurden bisher nicht untersucht. Da die Wirkstoffapplikation in der Medizin und Kosmetikpflege sehr häufig topisch erfolgt, sollten für die Entwicklung von Substanzen die ethnischen Penetrationsunterschiede bekannt sein und berücksichtigen werden.

Deshalb ist das Ziel dieser Arbeit neben einer umfangreichen Untersuchung der Hautstruktur und -physiologie vor allem die Bestimmung der Follikelparameter und Hautpenetration von topisch applizierten Substanzen bei verschiedenen ethnischen Gruppen.

Folgende weiterführende Fragestellungen wurden nach ausführlicher Literaturrecherche entwickelt:

1. Zeigen verschiedene Hautparameter (TELW, Hautfeuchte, pH, Sebum, Hautrauhigkeit, Melaninverteilung und Antioxidantienkonzentration) bei Kaukasiern, Afrikanern und Asiaten signifikante Unterschiede?

2. Ist das Follikelreservoir am Unterschenkel bei Kaukasiern größer als bei Afrikanern und Asiaten?
3. Wie unterscheidet sich die Penetration in die Haarfollikel und ins Stratum corneum bei den drei untersuchten ethnischen Gruppen?
4. Sollten für das Follikelreservoir ethnische Unterschiede nachweisbar sein, finden sich diese bei derselben Probandengruppe im Follikelpenetrationsprofil wieder?
5. Unterscheidet sich der Vellus- und Terminalhaardurchmesser auf der Kopfhaut und an der Wade bei den ethnischen Gruppen?
6. Gibt es signifikante Unterschiede in Bezug auf Follikelöffnung, -fläche und -volumen auf der Kopfhaut bei Kaukasiern, Afrikanern und Asiaten?

## 2 Material und Methoden

Die Studie wurde an 18 männlichen Probanden durchgeführt: 6 Kaukasier, 6 Afrikaner und 6 Asiaten. Die Kaukasier waren 28,1 ( $\pm 4,3$ ) Jahre alt, die Afrikaner 27,3 ( $\pm 3,2$ ) und die Asiaten 23,5 ( $\pm 1,6$ ). Die Kaukasier waren Phototyp II-III, die Afrikaner Phototyp V-VI und die Asiaten Phototyp IV nach der Fitzpatrick's Klassifikation [73]. Es wurden keine UV-Tests durchgeführt um die Lichtempfindlichkeit der Haut zu bestimmen. Die Phototypen wurden anhand der Haut-, Haar-, Augenfarbe und der anamnestischen Neigung zu Sonnenbrand, Hautrötung bzw. Hautbräune in der Sonne ermittelt. Die Probanden waren alle gesund und hatten keine Hauterkrankungen. Die Afrikaner und Asiaten lebten in Deutschland und waren zur Zeit der Untersuchung mindestens seit 1 bis 2 Jahren in Europa. Alle Probanden wurden über die Untersuchungen aufgeklärt und haben mündlich und schriftlich ihr Einverständnis gegeben.

Jeder Teilnehmer wurde zu Essgewohnheiten und Lebensstil, Rauch- und Trinkverhalten befragt. Es wurden zur Zeit der Messung die aktuelle Wetterlage, Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit vermerkt.

Es wurden 3 Studienprotokolle entwickelt.

- Das Studienprotokoll A beinhaltet die Bestimmung der Hautparameter: TEWL, Hautfeuchte, pH der Hautoberfläche, Sebumgehalt, Hautrauhigkeit sowie Antioxidantiengehalt und Melaninverteilung.
- Im Rahmen des Studienprotokolls B wurden folgende Haarfollikelparameter an der Wade und an der Kopfhaut mit Hilfe der Cyanoacrylatabriss-Methode erhoben: Haardurchmesser, Follikeldichte, Follikeldurchmesser, Follikelfläche und -volumen.
- Im Rahmen des Studienprotokolls C wurde die interzelluläre und follikuläre Penetration an der Wade mittels der Differential-Stripping-Methode untersucht.

## **2.1 Studienprotokoll A - Bestimmung der Hauptparameter**

### **a) Messung des transepidermalen Wasserverlustes**

Bei der Untersuchung der Hautbarrierefunktion spielt die Messung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) eine wichtige Rolle. Sie ist ein Parameter für die Barrierequalität der Epidermis und somit für die allgemeine Schutzfunktion der Haut gegenüber der Umwelt und ist definiert als die Menge Wasser, die pro Zeiteinheit und Fläche über die Epidermis nach außen abgegeben wird.

Mit Hilfe des Tewameters (Tewameter TM 210, Courage & Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland) wurde der TEWL-Wert der Haut gemessen. Der Normbereich des TEWL liegt zwischen 10 und 20 g/m<sup>2</sup>h.

Da der TEWL-Wert durch die Raumtemperatur, Luftfeuchtigkeit und vermehrte Schweißproduktion beeinflusst wird, wurden die Tests unter gleichen Raum- und Ruhebedingungen durchgeführt. Die Messungen erfolgten bei allen Probanden an der gleichen Stelle der Unterarminnenseite.

### **b) Messung der Hautfeuchte**

Mittels des Corneometers (Courage & Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland) wurde die Hautfeuchtigkeit gemessen. Der Feuchtigkeitsgehalt des Stratum corneum spiegelt ebenfalls die Hautbarrierefunktion wider. Bei einer guten Barriere verdunstet wenig Wasser von der Haut und es verbleibt somit mehr in der Epidermis.

Das Gerät erfasst minimale Veränderungen der Hautfeuchtigkeit in den oberflächigen Schichten des Stratum corneum. (bis zu den ersten 10-20 µm des Stratum corneum)

Die Messung wurde am Unterarm durchgeführt.

### **c) pH Messung**

Zur Messung der Säureeigenschaften der Hautoberfläche wurde das pH-Meter (Skin-pH-meter PH 900, Courage & Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland) genutzt. Der pH-Wert wird mit einer Glaselektrode gemessen. Der Normalwert auf der Hautoberfläche liegt zwischen 5,0 und 6,0.

Die Bestimmung der Säureeigenschaften der Haut liefert einen wichtigen Parameter für die Untersuchung der Hydrolipidschicht der Hautoberfläche. Der pH-Wert kann sich durch die Anwendung von Hautpflegeprodukten und Waschmitteln ändern.

Deshalb durften die Probanden am Tag der Untersuchung keine Hautpflegemittel und Waschmittel benutzen. Der pH-Wert wurde auf der Unterarminnenseite gemessen.

#### **d) Messung des Hauttalgs**

Der Talggehalt der Hautoberfläche wurde mit dem Sebumeter (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Köln, Deutschland) gemessen. Die Sebumetrie ist eine nicht invasive Methode, um den Fettgehalt der Haut und der Haare zu ermitteln.

Der Messkopf wird mit leichtem Druck an die Haut gepresst. Durch den Kontakt mit der Hautfettschicht nimmt das Band die Hautfette auf und wird transparenter. Das Gerät sendet einen Lichtstrahl in Richtung des Messkopfes. Die Durchsichtigkeitsänderung des Bandes wird durch das Gerät erfasst und somit der Sebum-Wert in  $\mu\text{g Talg}/\text{cm}^2$  der Hautfläche ermittelt. Der Messung des Hauttalgs erfolgte auf der Unterarminnenseite.

#### **e) Hautstrukturmessung**

Für die Hautstrukturmessung wurde ein objektives Messverfahren eingesetzt. Das Primos 4.0-Profilmesssystem (G F Messtechnik GmbH) erstellt dreidimensionale Bilder der Hautoberflächenstruktur (Abb. 3 und 4). Es ist eine kontaktlose, optische Methode mit einer hohen Auflösung ( $1 \mu\text{m}$ ) und kurzen Messzeiten (innerhalb von 70 ms). Diese Vorteile werden durch ein wanderndes Lichtmuster gewährleistet, dessen Reflektionen von der Software in dreidimensionale Profile übersetzt werden. Die Software ermöglicht die Bewertung der erhaltenen Profile und somit einen Vergleich von Hautstrukturen verschiedener Personen zu verschiedenen Zeitpunkten [20].

Auf die Haut wird ein parallel gestreiftes Lichtmuster projiziert. Durch ein optisches System wird die Hautoberfläche erfasst. Auf dem Computerbildschirm erscheint ein Aufnahmebild, das durch die Software (Programm Primos) evaluiert wird. Der 3D-Effekt entsteht auf Grund der Hautrauigkeit, die zur Auslenkung der parallelen Streifen führt. Die Messung der Auslenkungen stellt die quantitative und qualitative Untersuchung der Hautstruktur dar.

Die Messungen wurden dreimal bei jedem Probanden auf der Unterarminnenseite durchgeführt und der Mittelwert errechnet. Die Ergebnisse stellen die Rauigkeit der



Haut dar. Je tiefer die Hautfurchen bzw. je rauer die Hautstruktur, desto größer ist der gemessene Wert.

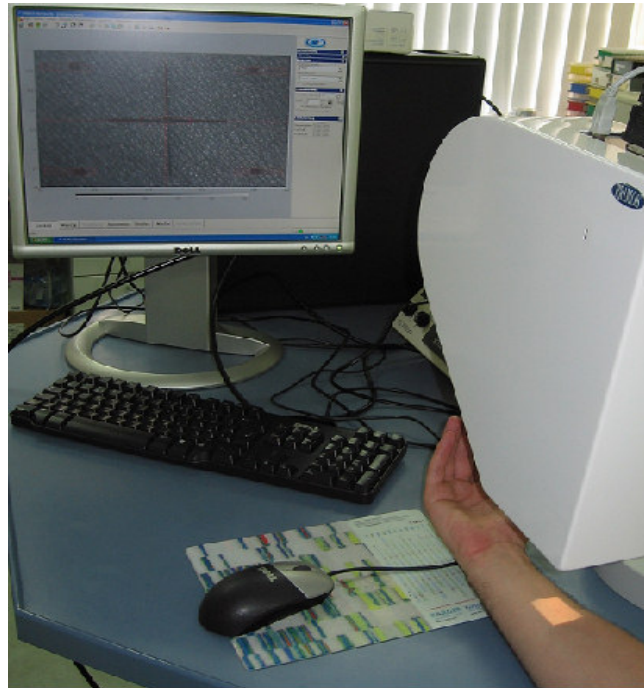


Abb. 3: Messung der Hautrauhigkeit auf dem Unterarm mit dem Primos-System

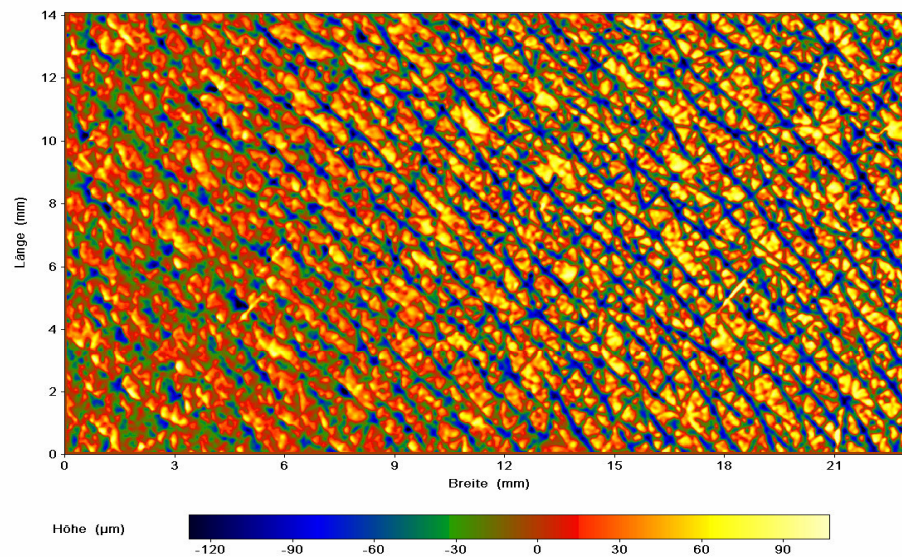


Abb. 4: Dreidimensionales Profil der Hautoberfläche

#### **f) Messung der Antioxidantien: Lykopen und $\beta$ -Karotin**

Die Messung der Antioxidantien in der Haut wurde mit Hilfe der Raman Spektroskopie durchgeführt. Der Messaufbau ist in Abb. 5 dargestellt. Diese Methode ist ausführlich bei Darvin et al. beschrieben [30].

Es handelt sich um eine nicht invasive und leicht durchführbare Untersuchung, bei der die Karotinoide Lykopen und  $\beta$ -Karotin in der Haut bestimmt werden. Sie sind die wichtigsten Antioxidantien in der Haut und machen 70% aller Karotinoide aus [28].

$\beta$ -Karotin und Lykopen haben unterschiedliche Absorptionswerte bei 418 nm bzw. 514,5 nm Wellenlänge. Dies zeigt sich durch die Unterschiede in der Intensität der Raman'schen Strahlungspeaks. Die Intensität des Peaks ist direkt proportional zur Konzentration der zu untersuchenden Moleküle. Somit kann man in-vivo die Konzentration von  $\beta$ -Karotin und Lykopen in der Haut bestimmen. In Abb. 6 ist ein typisches Spektrum dargestellt, das man von der Hautoberfläche nach Anregung mit 514,5 nm Wellenlänge erhält. Das Spektrum nach Anregung mit 488 nm zeigt einen ähnlichen Verlauf. Auf der Spektrumskurve werden drei Raman Peaks dargestellt:  $1005\text{ cm}^{-1}$ ,  $1156\text{ cm}^{-1}$  und  $1523\text{ cm}^{-1}$ . Alle Peaks beschreiben die Lykopen- und  $\beta$ -Karotin-Konzentration, wobei der letzte Peak der kräftigste ist, sowohl bei 418 als auch bei 514,5 nm Anregung. Deshalb wurden nur die Daten vom dritten Peak in die Studie aufgenommen und analysiert. Durch die kleine Penetrationstiefe des Argon-Laserlichtes in die Haut, welche maximal 150  $\mu\text{m}$  beträgt, werden nur die Signale von der Epidermis und nicht von den Blutgefäßen registriert.

Die  $\beta$ -Karotin- und Lykopen-Konzentrationen wurden auf der Palmarseite der Hand und auf der Stirn bei jedem Probanden gemessen und analysiert.

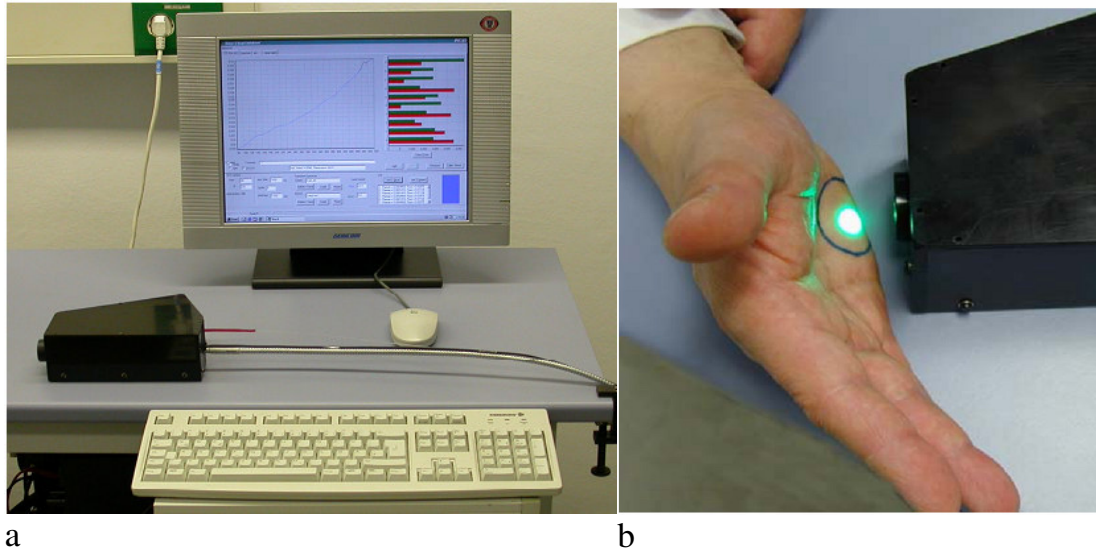


Abb. 5: Messung der Antioxidantien in der Haut mit der Raman Spektroskopie  
 a) Aufbau des Messapparates, b) Messung des Handballens bei einem Probanden

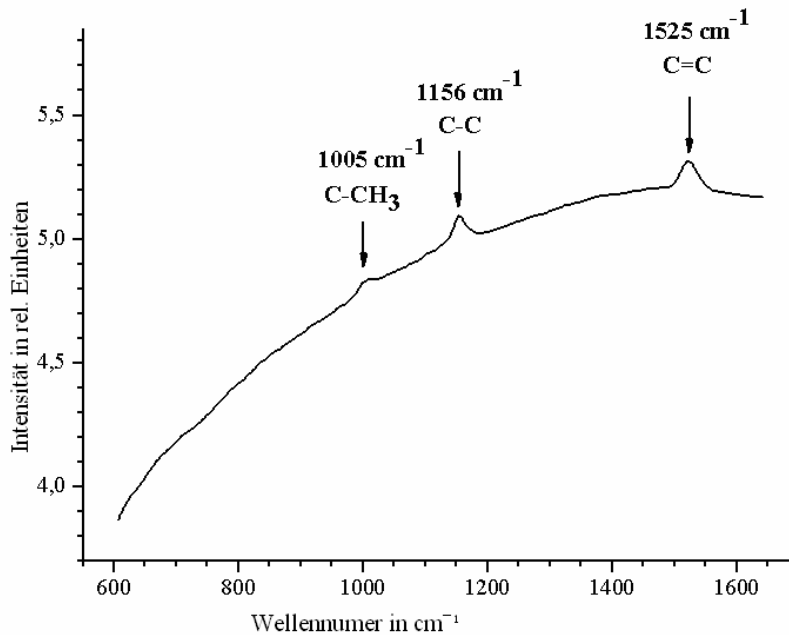


Abb. 6: Spektrum mit den drei Raman Peaks: 1005 cm<sup>-1</sup>, 1156 cm<sup>-1</sup> und 1523 cm<sup>-1</sup>

**g) Untersuchung der Melaninverteilung**

Die Melaninverteilung wurde mit Hilfe des VivaScope® 1500 bestimmt. Das VivaScope ist ein konfokales Laser-Scan-Mikroskop (CLSM). Es ermöglicht die so genannte „optische Biopsie“. Dies ist eine nicht invasive Untersuchung der Epidermis

und der Dermis in-vivo. Die zellulären Mikrostrukturen werden in horizontalen, dünnen optischen Schnitten abgebildet [75].

Die VivaScope-Untersuchung wurde auf der Unterarminnenseite durchgeführt (Abb. 7). Die Unterschiede im Brechungsindex der Hautmikrostrukturen erlauben die Darstellung. Der Brechungsindex des Wassers ist ca. 1,3 und ähnlich dem des Zytoplasmas, welcher bei ca.1,4 liegt. Deshalb wird Zytoplasma mit wenig Kontrast dargestellt. Der Melaninbrechungsindex liegt mit ca. 1,7 höher. Kontrastreiche Strukturen bedeuten, dass sie einen hohen Melaningehalt haben.



Abb. 7: Messung des Melanins mit dem VivaScope® 1500

## 2.2 Studienprotokoll B - Bestimmung der Follikelparameter

Die Cyanoacrylatbiopsie ist eine Standardmethode, um die oberen Schichten des Stratum corneum sowie den Follikelinhalt zu entfernen. Sie wurde bei den Probanden im Bereich des behaarten Kopfes und von der Wade entnommen. Cyanoacrylat ist ein sog. Sekundenkleber, der nicht toxisch ist und somit in-vivo eingesetzt werden kann.

Studienprotokoll B:

1. Vorbereitung des Messareals: Bei jedem Probanden wurde im Okzipitalbereich des Kopfes und an der Wade eine 4x4 cm<sup>2</sup> große Fläche rasiert, mit Wasser abgespült und mit Papierhandtüchern vorsichtig abgetrocknet.

2. Cyanoacrylatapplikation: Auf die markierte Hautfläche wurde gleichmäßig der Cyanoacrylatklebstoff aufgetragen. Der Kleber wurde gleich danach mit einer Folie bedeckt und mit einer Rolle an die Haut gepresst. Durch den Druck wird ein Teil vom Cyanoacrylat in die Follikelöffnungen eingepresst. Nach ca. 2 min ist der Kleber polymerisiert und die Folie kann entfernt werden. Auf der Folie sind dann das Oberflächemuster der Haut und die Follikelabdrücke zu erkennen. Die Follikelbiopsie stellt einen Abguss des Follikelinfundibulum dar.

3. Ausmessung und Errechnung der Follikelparameter: Der Abriss wurde auf einem durchsichtigen Objektträger befestigt. Auf der unteren Seite wird eine 1 cm<sup>2</sup> große Fläche markiert. Innerhalb dieser Fläche wurden lichtmikroskopisch bei 40facher Vergrößerung die Follikel gezählt. Im Anschluss wurden mittels Laser-Scan-Mikroskopie (Olympus BX 60 M) dreidimensionale Bilder von den Haarfollikeln erstellt (Abb. 8). Der Objektisch des Mikroskops wurde in vertikaler Ebene bewegt. Währenddessen wurden mehrere Bilder in gleichen Abständen von den Haarfollikeln aufgenommen und zu einem dreidimensionalen EFI-Bild (extended focal aging) zusammengestellt. Mit Hilfe eines entsprechenden Software-Programms (analySIS®, Soft Imaging System GmbH SIS, Münster) wurden die Follikel vermessen. Diese Messmethode wurde von Otberg entwickelt und in der Dissertation ausführlich beschrieben [72].

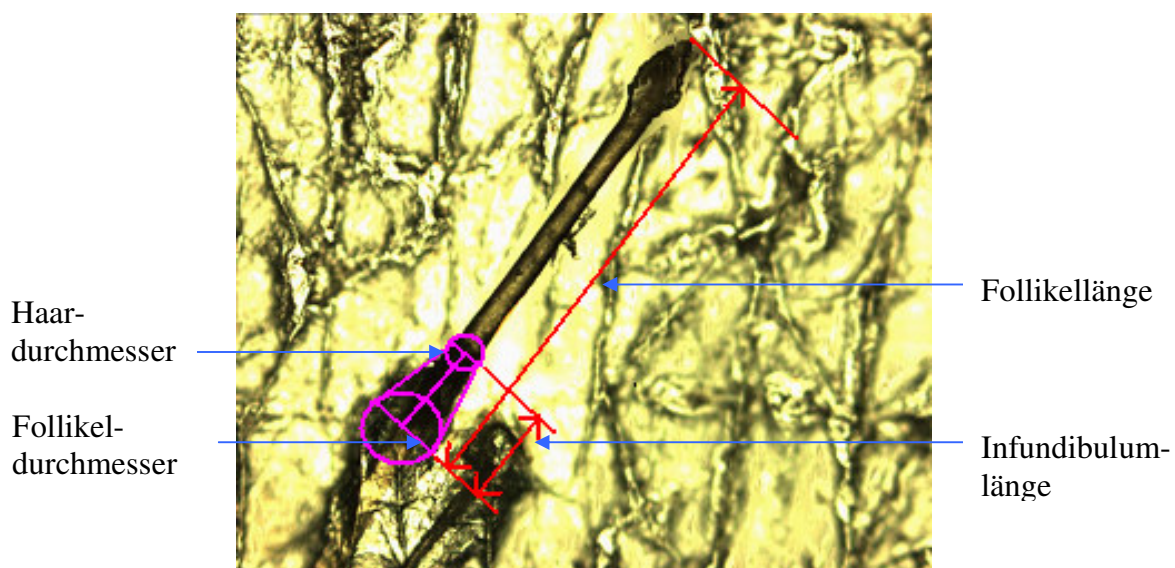


Abb. 8: Cyanoacrylatabriss mit dem Follikelinfundibulum

Es wurden folgende Parameter direkt ausgemessen:

1. *Haardurchmesser*
2. *Folikeldurchmesser*
3. *Folikeldichte*

Weitere Parameter wurden mittels geometrischer Formeln kalkuliert:

4. *Follikelöffnungsfläche (A):*

$$A = \pi r^2 \text{ (r gleich } \frac{1}{2} \text{ Durchmesser der Follikelöffnung)}$$

5. *Volumen des Follikelinfundibulum (V<sub>i</sub>):*

Um das für die Penetration zu Verfügung stehende Infundibulumvolumen V<sub>i</sub> zu errechnen, muss das gesamte Infundibulumvolumen V<sub>g</sub> vom Haarschaftvolumen V subtrahiert werden.

$$V_i = V_g - V$$

Das gesamte Infundibulumvolumen V<sub>g</sub> kann als Konusvolumen errechnet werden:

$$V_g = \pi / 12 h (d_1^2 + d_2^2 + d_1 d_2)$$

d<sub>1</sub> - Follikelöffnungsdurchmesser

d<sub>2</sub> - Haarschaftsdurchmesser

h - Infundibulumlänge

Das Haarschaftvolumen erhält man durch folgende Gleichung:

$$V = \pi / 4 d^2 h$$

d – Haarschaftdurchmesser

h – Infundibulumlänge

6. *Oberfläche des Infundibulum*

Die Infundibulumfläche (A) ist von Bedeutung, weil sie die zusätzliche Penetrationsfläche darstellt. Sie lässt sich mit folgenden Gleichungen berechnen:

$$A = \pi s (d_1/2 + d_2/2), \text{ wobei}$$

$$s^2 = (d_1/2 - d_2/2)^2 + h^2 \quad (d_1, d_2, h - \text{siehe Legende oben})$$

7. *Follikelvolumen und Follikelfläche pro cm<sup>2</sup>*

Für jeden Haarfollikel wurden die oben genannten Parameter errechnet. Auf den Cyanoacrylatabrissen waren sowohl Vellushaare als auch Terminalhaare vorhanden.

Für jeden Haartyp wurden die durchschnittlichen Werte der Parameter separat bestimmt. Um Gesamtvolumen und Gesamtfläche der Haarfollikel zu errechnen, wurde die Dichte der Vellushaare ( $N_v$ ) und der Terminalhaare ( $N_t$ ) mit den durchschnittlichen Follikelvolumina ( $V_v$  und  $V_t$ ) und Flächen ( $A_v$  und  $A_t$ ) des jeweiligen Haartyps multipliziert. Aus der Summe beider Haarfollikeltypen erhielt man das Follikelvolumen ( $V$ ) und die Follikelfläche ( $A$ ) pro  $\text{cm}^2$ .

$$V = N_v V_v + N_t V_t$$

$$A = N_v A_v + N_t A_t$$

### 2.3 Studienprotokoll C – Untersuchung der Penetration mittels der Differential-Stripping-Methode

Die Penetrationsmessung erfolgte nach der Farbstoffapplikation nach festgelegten Zeitabständen. Zu jedem Zeitpunkt wurden aus den Haarfollikeln und dem Stratum corneum die Proben entnommen und die Menge vom applizierten Stoff bestimmt.

Studienprotokoll C:

#### 1. Vorbereitung des Messareals

Auf der Wade jedes Probanden wurde eine  $4 \times 12 \text{ cm}^2$  große Fläche mit jeweils  $4 \times 4 \text{ cm}^2$  für die 30 min, 24 Std. und 96 Std. Einwirkdauer mit einem wasserfesten Marker gekennzeichnet (Abb. 9). Die vorhandenen Haare wurden abgeschnitten und die Haut unter fließendem Wasser gewaschen.

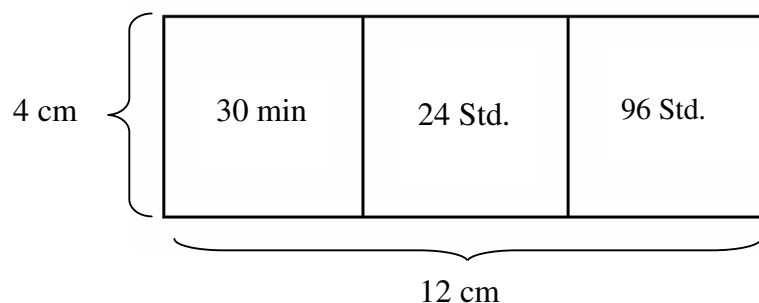


Abb. 9: Flächemarkierung auf der Haut für die Untersuchung der Penetration

#### 2. Farbstoffapplikation

Die 2%ige Natriumfluorescein-Lösung wurde auf die markierte Hautfläche aufgetragen und gleichmäßig verteilt ( $2 \text{ mg/cm}^2$ ).

3. Penetrationszeit und Probenentnahme: Nach 30 min, 24 Std. und 96 Std. Einwirkdauer wurde mittels der Differential-Stripping-Methode erst das Stratum corneum entfernt und danach der Cyanoacrylatabriss entnommen (Abb. 10).

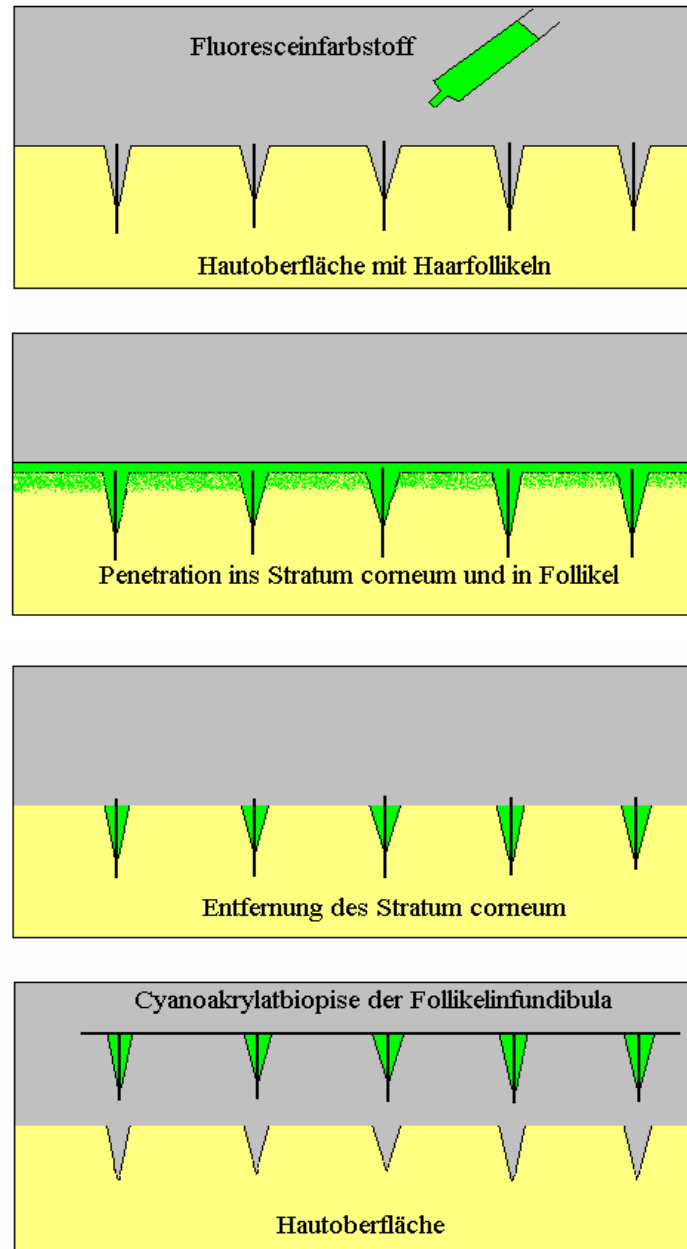


Abb. 10: Prinzip Differential-Stripping-Methode schematisch dargestellt

Die Differential-Stripping-Methode ist eine aus zwei Verfahren kombinierte Methode: a) Abrissmethode und b) Cyanoacrylatbiopsie. Sie ermöglicht nicht invasiv die Menge der applizierten Substanz im Stratum corneum und in den Haarfollikeln zu bestimmen.



a) Mittels der Abrissmethode wurde das Stratum corneum zunächst Schicht für Schicht entfernt. Ein Klebestreifen (tesa No5529, Beiersdorf, Hamburg, Deutschland) wurde an einer Stelle der Haut mit einer Rolle angepresst, um den Einfluss von Falten und Furchen zu minimieren. Damit erreicht man den Kontakt des Klebestreifens mit der gesamten Hautoberfläche. Dann wurde der Klebestreifen in einem Zug ruckartig entfernt. Jedes Mal wurden damit mehrere Zellschichten vom Stratum corneum entnommen. Dies wurde solange durchgeführt, bis auf der Hautoberfläche kein Natriumfluorescein mehr nachweisbar war, sondern nur noch in den Haarfollikelöffnungen. Die entsprechende Kontrolle erfolgte unter dem Laser-Scan-Mikroskop (LSM 2000, Carl Zeiss, Jena, Deutschland).

b) Nach der Entfernung des Stratum corneum erfolgte eine Cyanacrylatbiopsie, um die Follikelinhalte selektiv zu entfernen.

Cyanoacrylat wird hierfür auf dasselbe Hautareal aufgetragen. Der Klebstoff wird mit Folie bedeckt und an die Haut gepresst. Nach der Polymerisation des Klebstoffes wird die Folie entfernt. Auf der Folie verbleiben weitere Schichten des Stratum corneum sowie die Infundibulum-inhalte mit dem in die Follikel penetrierten Farbstoff.

#### 4. Quantitative Bestimmung des penetrierten Farbstoffes Natriumfluorescein

Die gewonnenen Proben vom Stratum corneum und den Haarfollikeln wurden separat in Ethanol (Uvasol, Merck, Darmstadt) gelöst, hierfür wurden die Proben 15 min im Ultraschallbad (Sonorex Super RK102H, Bandelin Electronic, Berlin) behandelt und anschließend zentrifugiert. Die Fluoresceinkonzentration in den Lösungen wurde mit Hilfe des Fluoreszenzspektrometers (Luminescent LS 50B, Perkin Elmer, Überlingen) gemessen: erst erfolgte die Anregung des Natriumfluorescein bei 450 nm und danach die Messung des Fluoreszenzsignals mit einem Spektralfilter, welcher für Wellenlängen im Bereich von 480 bis 600 nm durchlässig ist.

Die maximale Fluoreszenz zeigte sich bei einer Wellenlänge von 510 nm (Abb. 11). Die Intensität des fluoreszierenden Signals wurde als Maß für die Konzentration des Farbstoffes im Stratum corneum und in den Haarfollikeln genutzt.

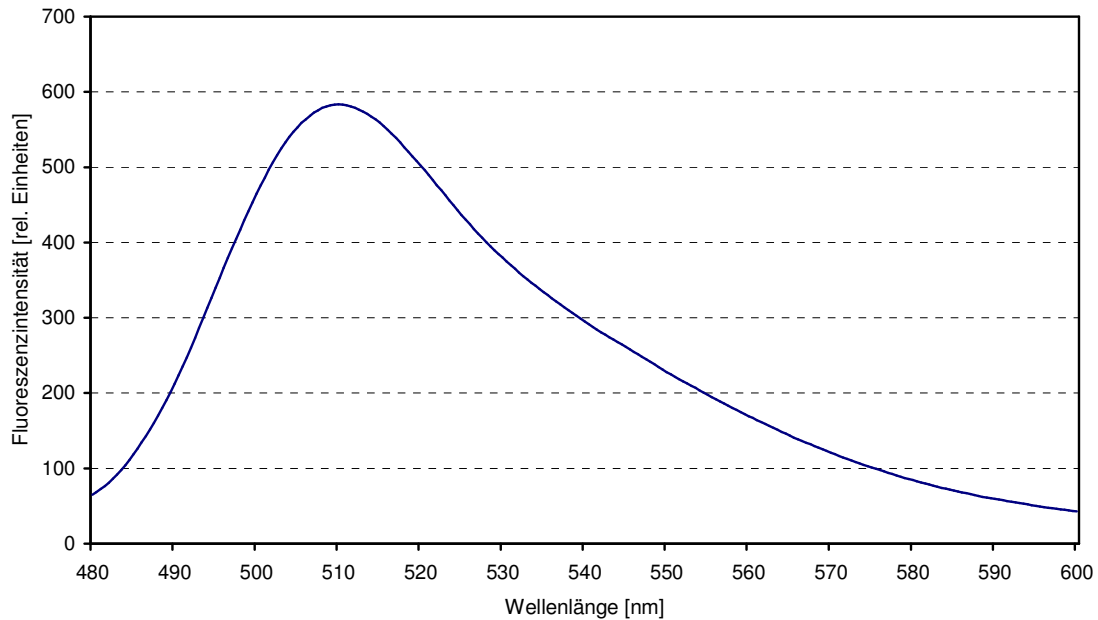


Abb. 11: Fluoreszenzsignal mit einem Fluoreszenzmaximum bei einer Wellenlänge von 520 nm (rel. Einheiten)

## 2.4 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurden der Kruskal-Wallis- und der Mann-Whitney-Tests genutzt (SPSS-Programm (16.0)). Als Datengrundlage dienten die Mittelwerte und die Standardabweichungen. Mittelwerte und Standardabweichungen wurden zunächst für jeden einzelnen Probanden errechnet, dann wurden die ethnischen Unterschiede analysiert. Es wurden die drei ethnischen Gruppen sowohl untereinander als auch jede Gruppe mit den zwei anderen Gruppen verglichen. Für statistisch signifikante Unterschiede war ein Signifikanzwert von  $p < 0.05$  notwendig.

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 Studienprotokoll A - Messung der Hautparameter**

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Hautparameter der einzelnen Probanden sowie die Mittelwerte (MW) und die Standardabweichungen (SD) für die jeweilige ethnische Gruppe dargestellt.

##### **Transepidermaler Wasserverlust**

Die gemessenen TEWL-Werte haben keine signifikanten Unterschiede zwischen den ethnischen Gruppen gezeigt. Zwar wiesen die Kaukasier mit  $11,9 (\pm 1,2)$  g/m<sup>2</sup>h den niedrigsten TEWL-Wert im Vergleich zu den Afrikanern mit  $13 (\pm 2,5)$  g/m<sup>2</sup>h und zu den Asiaten mit  $14,3 (\pm 3,1)$  g/m<sup>2</sup>h auf, aber die Variabilität der TEWL-Werte bei den einzelnen Probanden war größer (von  $9,1$  g/m<sup>2</sup>h bis  $16,2$  g/m<sup>2</sup>h) als die Variabilität der Mittelwerte bei den verschiedenen ethnischen Gruppen.

##### **Hautfeuchte**

Der Feuchtigkeitsgehalt des Stratum corneum zeigte ebenfalls keine signifikanten ethnischen Unterschiede. Der Wert der Hautfeuchte war bei den kaukasischen Probanden mit  $79,6 (\pm 10,1)$  rel. Einheiten höher, als bei den Afrikanern mit  $75 (\pm 6,5)$  rel. Einheiten und den Asiaten mit  $69,5 (\pm 10,7)$  rel. Einheiten.

##### **pH-Wert der Hautoberfläche**

Die Säureeigenschaften der Haut zeigten keine Unterschiede zwischen den Gruppen der Kaukasier, Afrikaner und Asiaten. Es wurden folgende durchschnittliche pH-Werte ermittelt: Kaukasier  $5,2 (\pm 0,3)$ , Afrikaner  $5,4 (\pm 0,7)$ , Asiaten  $5,0 (\pm 0,2)$ . Die individuellen pH-Werte waren bei den Afrikanern von  $4,1$ , bis  $6,1$  variabler als bei den anderen ethnischen Gruppen.

##### **Sebumetrie**

Der gemessene Talggehalt auf der Hautoberfläche hat keine signifikanten ethnischen Unterschiede gezeigt. Die Afrikaner hatten mit  $1,8 (\pm 1,3)$  µg Talg/cm<sup>2</sup> etwas höhere Sebumwerte im Vergleich zu den anderen zwei Gruppen (Kaukasier:  $0,7 (\pm 0,8)$  µg Talg/cm<sup>2</sup>, Asiaten:  $0,8 (\pm 0,9)$  µg Talg/cm<sup>2</sup>).

## Oberflächliche Hautstruktur

In Bezug auf die Rauhigkeit wurden ebenfalls keine ethnischen Unterschiede nachgewiesen (Abb. 12). Die Variabilität bei den einzelnen Probanden war größer (von 17,4  $\mu\text{m}$  bis 32,27  $\mu\text{m}$ ) als die Variabilität der Mittelwerte bei den verschiedenen ethnischen Gruppen (26,77 ( $\pm 4,9$ )  $\mu\text{m}$  bei den Kaukasiern; 22,52 ( $\pm 5,9$ )  $\mu\text{m}$  bei den Afrikanern und 26,04 ( $\pm 2,6$ )  $\mu\text{m}$  bei den Asiaten).

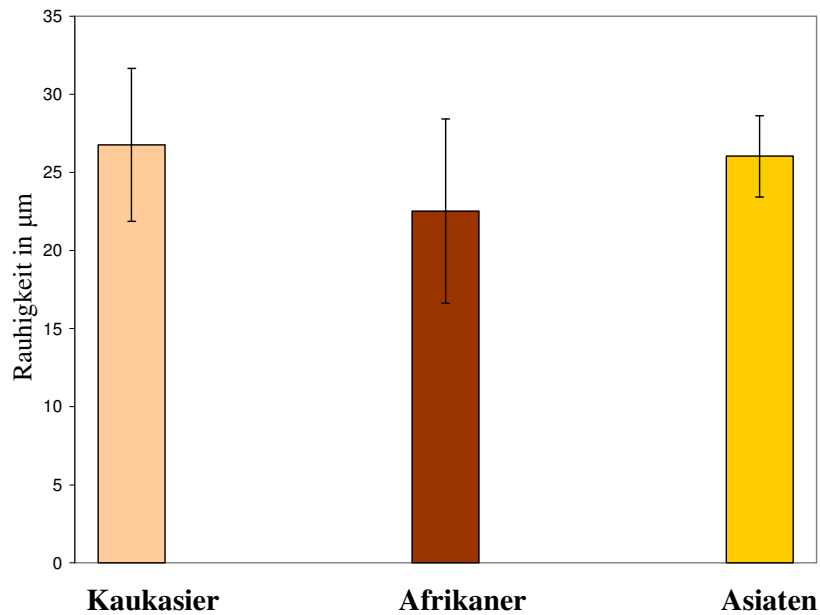


Abb. 12: Hautrauhigkeit in  $\mu\text{m}$  gemessen bei Kaukasiern, Afrikanern und Asiaten in  $\mu\text{m}$

## Antioxidantien

Die  $\beta$ -Karatinkonzentration auf der Stirn war bei Kaukasiern zehnmal höher als bei den Afrikanern und doppelt so hoch wie bei den Asiaten (Abb. 13). Der Unterschied zwischen Afrikanern und Kaukasiern war statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ). Die Lykopinmessung zeigte eine fünfmal höhere Konzentration bei den Kaukasiern im Vergleich zu den Afrikanern ( $p < 0,05$ ) und eine doppelt so hohe Konzentration im Vergleich zu den Asiaten.

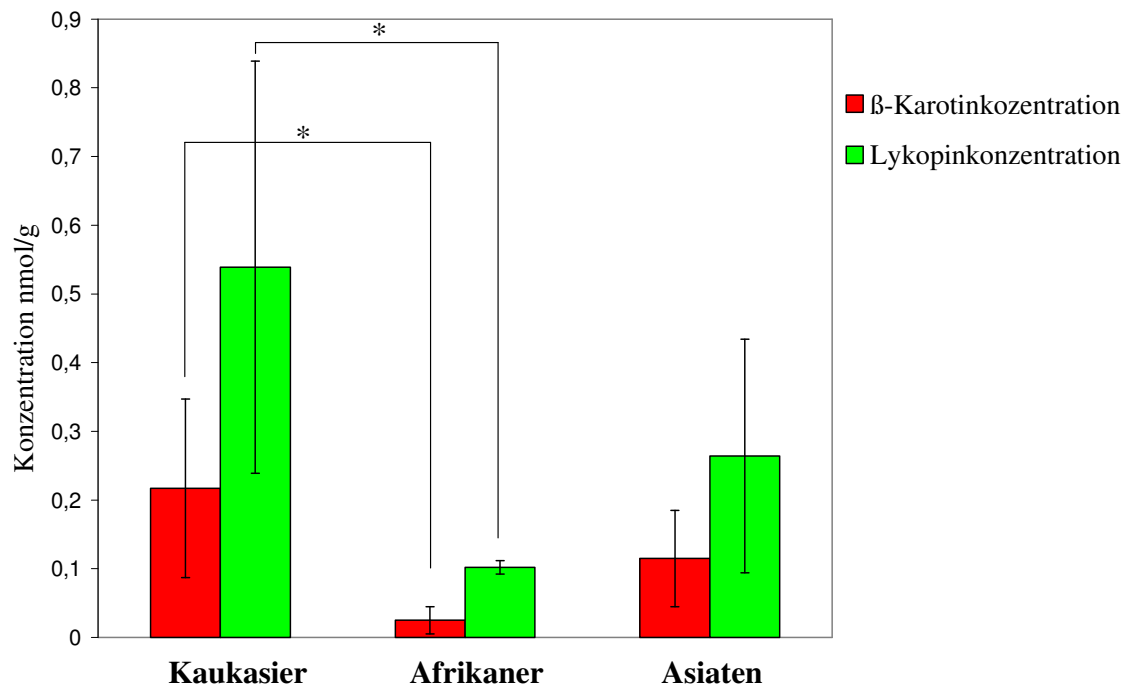


Abb. 13: Die Konzentration von  $\beta$ -Karatoin und Lykopin auf der Stirn in nmol/g (\*  $p < 0,05$ )

Da das Melanin die eingesetzte Wellenlänge absorbiert, kann der unterschiedliche Melaningehalt in der Haut bei den ethnischen Gruppen die Messung der Antioxidantien beeinflussen. Um dies auszuschließen wurde die  $\beta$ -Karatoin- und Lykopinkonzentration auch im Bereich der Handballen gemessen, wo der Melaningehalt bei allen Hauttypen gleich ist.

Im Bereich der Handballen wurden keine signifikanten Unterschiede bei der Lykopin- und  $\beta$ -Karatoinkonzentration festgestellt (Abb. 14). Für die Lykopinkonzentration zeigten die afrikanischen Probanden etwas höhere Werte als die Kaukasier und die Asiaten.

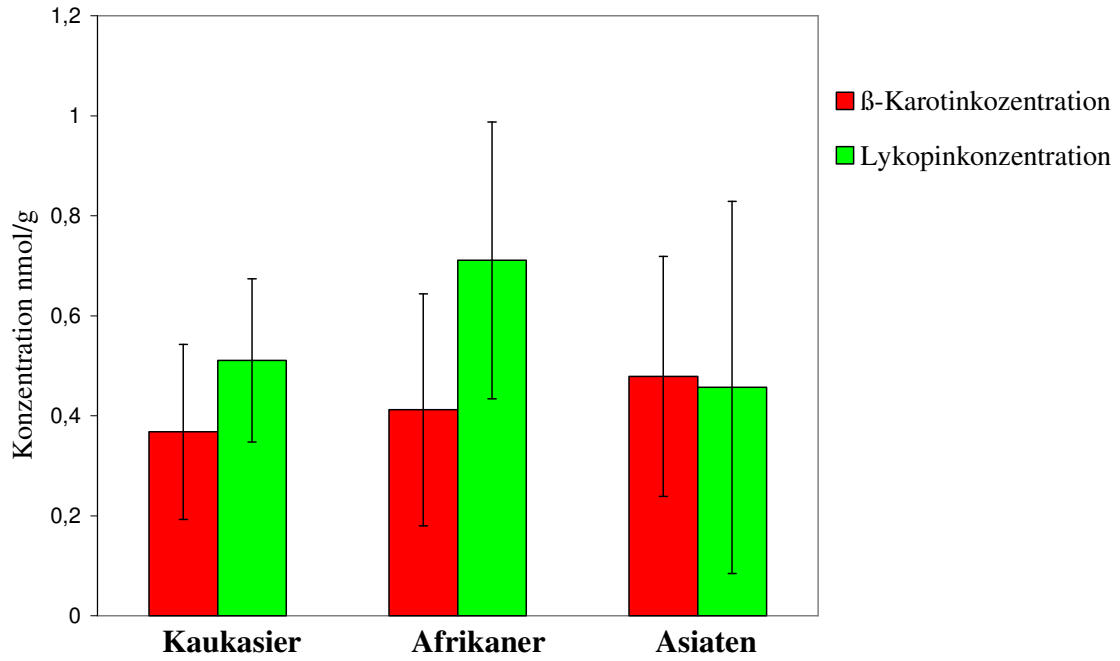


Abb. 14: Die Konzentration von  $\beta$ -Karatoin und Lykopin am Handballen in nmol/g

## **Melaninverteilung**

Zur Beurteilung der Melaninverteilung wurde ein konfokales Laser-Scan-Mikroskop (Vivascope®) genutzt. Mit Hilfe des Vivascopes wurden bei allen ethnischen Gruppen Aufnahmen in vergleichbarer Tiefe der Epidermis gemacht (Abb. 15). Auf den Bildern sind helle Strukturen zu sehen (rote Pfeile), welche die Zellverbände darstellen, die dunklen Strukturen dazwischen (blaue Pfeile) entsprechen den Hautfurchen. Bei Betrachtung des Verlaufs von der Oberfläche in die Tiefe der Epidermis werden die Zellverbände dunkler und die Hautfurchen dünner. Das Melanin zeigt sich hell und kontrastreich auf den Bildern. Es ist vermehrt im Stratum corneum zu sehen.

Der Vergleich der drei ethnischen Gruppen zeigt eine unterschiedliche Verteilung und Aggregation des Melanins in der Haut. Die afrikanischen Probanden zeigten eine Melaninverteilung in allen Epidermisschichten. Der Unterschied zu den Kaukasier wurde vor allem an der Epidermisoberfläche und im Stratum basale gesehen. Dort wiesen die Afrikaner vermehrte Melaninmengen auf. Die Asiaten zeigten ein gemischtes Bild. In den oberflächlichen Epidermisschichten wiesen sie mehr Melanin auf als die Kaukasier und weniger als die afrikanischen Probanden. Die tieferen Aufnahmen waren den Aufnahmen der Kaukasier ähnlich, die kontrastreichen Areale waren nur im Bereich der Hautfurchen zu sehen.

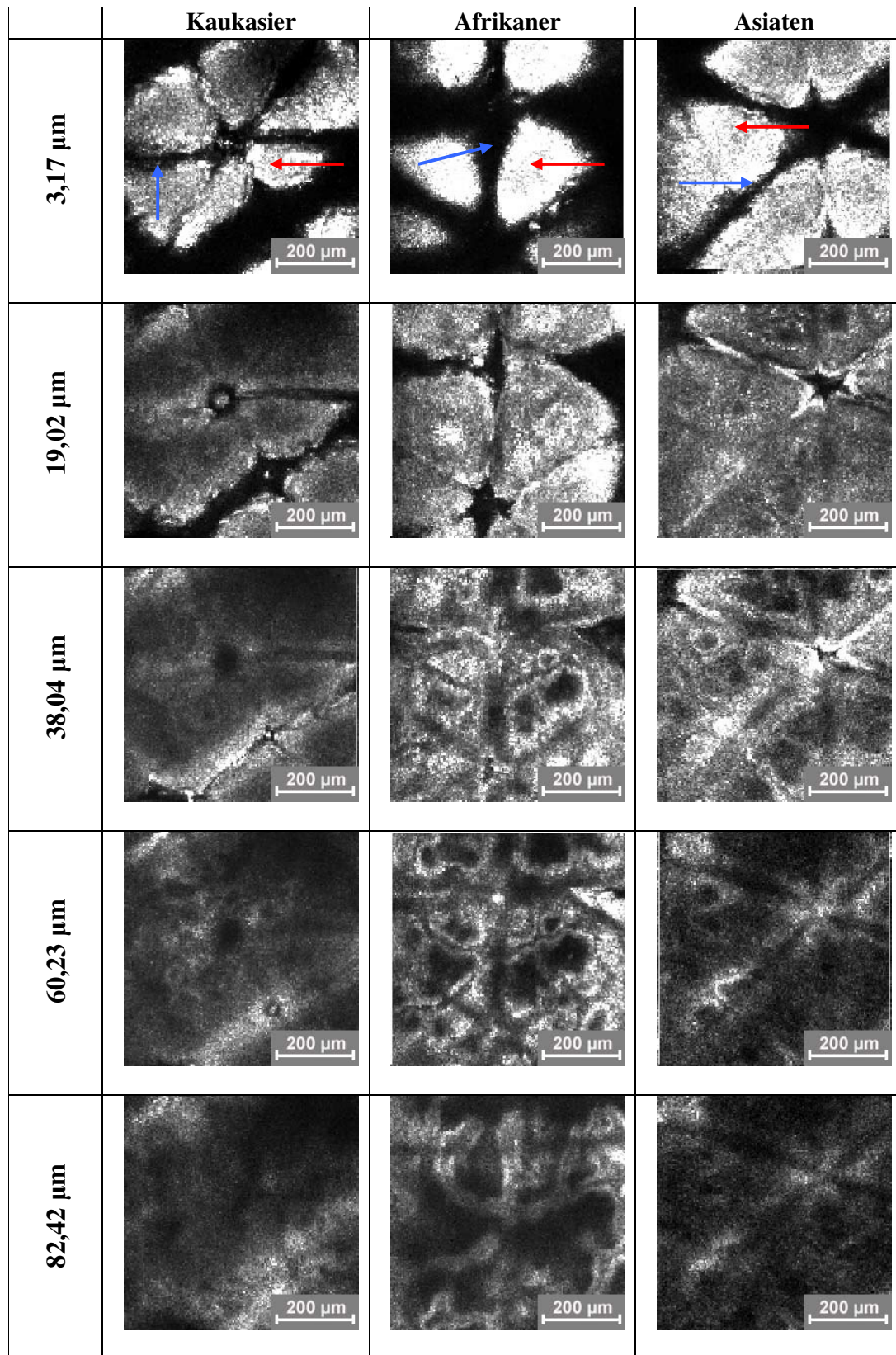


Abb. 15: Vivascope® Aufnahmen bei 3,17  $\mu\text{m}$ ; 19,02  $\mu\text{m}$ ; 38,04  $\mu\text{m}$ ; 60,23  $\mu\text{m}$  und 82,42  $\mu\text{m}$  Schichttiefe bei Kaukasiern, Afrikanern und Asiaten



### 3.2 Studienprotokoll B – Bestimmung der Follikelparameter

#### 3.2.1 Haardurchmesser an der Kopfhaut und im Bereich der Wade in $\mu\text{m}$

Der Durchmesser der Terminalhaare an der Kopfhaut war bei Asiaten mit  $78 \mu\text{m}$  am größten. Die Kaukasier ( $67 \mu\text{m}$ ) und Afrikaner ( $62 \mu\text{m}$ ) hatten signifikant dünnere Terminalhaare ( $p < 0,05$ ). Die Vellushaare zeigten bei allen drei ethnischen Gruppen einen ähnlichen Durchmesser:  $20 \mu\text{m}$  bei Kaukasiern und bei Afrikanern,  $22 \mu\text{m}$  bei Asiaten (Abb. 16).

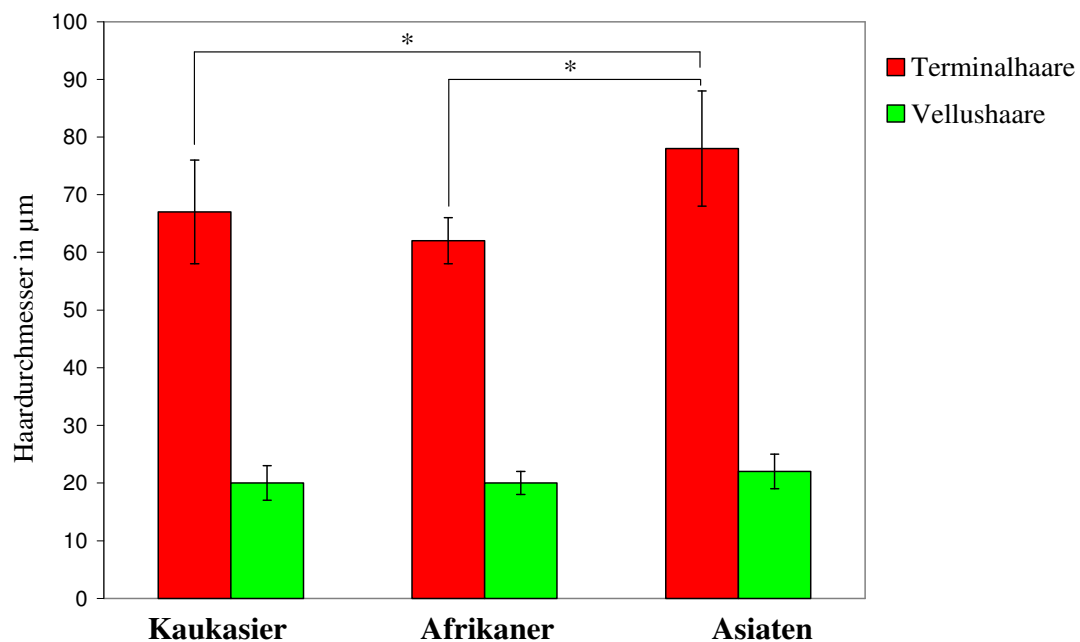


Abb. 16: Terminal- und Vellushaardurchmesser an der Kopfhaut in  $\mu\text{m}$  (\*  $p < 0,05$ )

Der Durchmesser der Terminalhaare im Bereich der Wade betrug bei Kaukasiern  $60,3 \mu\text{m}$ , bei Asiaten  $57 \mu\text{m}$  und bei Afrikanern  $55 \mu\text{m}$  (Abb. 17). Der gemessene Unterschied war nicht signifikant. Der Durchmesser der Vellushaare betrug bei Afrikanern  $21,6 \mu\text{m}$  und war signifikant größer als bei Kaukasiern  $17,6 \mu\text{m}$  ( $p < 0,05$ ). Die Vellushaare der Asiaten lagen mit ihrem Durchmesser von  $19,5 \mu\text{m}$  zwischen den beiden anderen Gruppen.

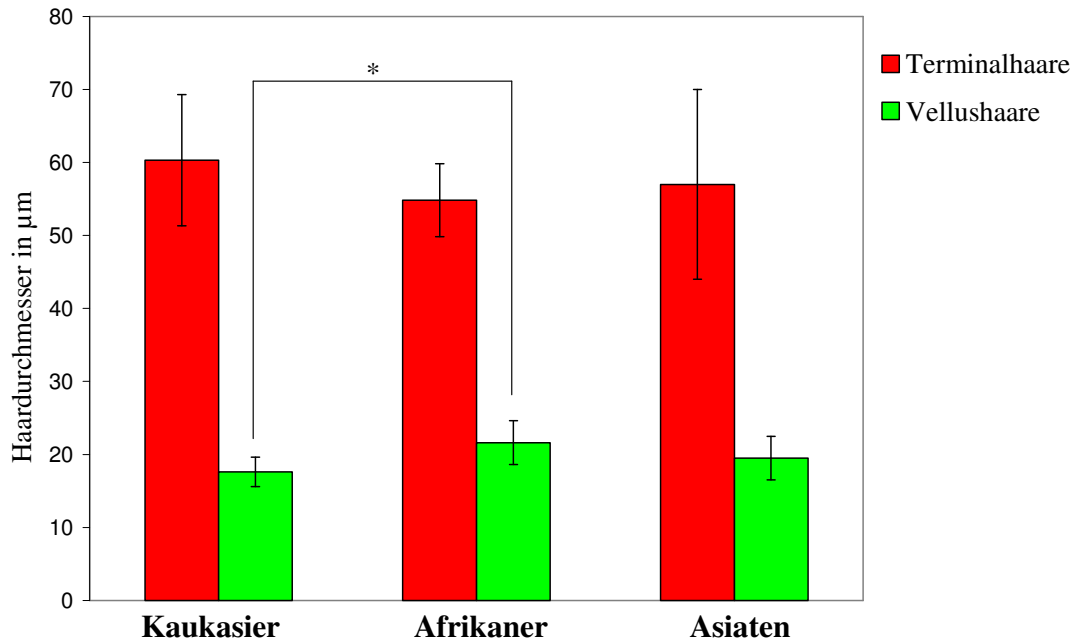


Abb. 17: Terminal- und Vellushaardurchmesser im Bereich der Wade in  $\mu\text{m}$   
 (\*  $p < 0,05$ )

### 3.2.2 Durchmesser der Haarfollikelöffnung an der Kopfhaut und im Bereich der Wade in $\mu\text{m}$

Der Durchmesser der Follikelöffnung wurde bei den drei ethnischen Gruppen für die Terminal- und Vellushaarfollikel sowohl an der Kopfhaut als auch im Bereich der Wade ausgemessen. Es wurden keine signifikanten Unterschiede innerhalb der drei Probandengruppen nachgewiesen.

Der durchschnittliche Durchmesser der Terminalhaarfollikelöffnung an der Kopfhaut war bei Kaukasiern mit  $259 (\pm 40) \mu\text{m}$  etwas größer als bei den anderen zwei Hauttypen (Afrikaner:  $214 (\pm 21) \mu\text{m}$  und Asiaten:  $216 (\pm 30) \mu\text{m}$ ). Im Vergleich zu den Afrikanern war der Unterschied annähernd signifikant ( $p=0.055$ ).

Die Mittelwerte für die Vellushaarfollikel lagen bei den afrikanischen Probanden bei  $94 (\pm 7) \mu\text{m}$  und bei den Asiaten bei  $101 (\pm 16) \mu\text{m}$ . Bei Kaukasiern reichte der Vellusfollikeldurchmesser von  $85 \mu\text{m}$  bis  $147 \mu\text{m}$  und betrug im Durchschnitt  $109 (\pm 23) \mu\text{m}$ .

Der Durchmesser der Terminalfollikel im Bereich der Wade war kleiner als an der Kopfhaut und betrug bei den Kaukasiern  $218 (\pm 32) \mu\text{m}$ , bei den afrikanischen Probanden  $203 (\pm 11) \mu\text{m}$  und bei den Asiaten  $208 (\pm 22) \mu\text{m}$ .

Die Vellushaarfollikel zeigten einen ähnlichen Durchmesser der Follikelöffnung bei allen drei ethnischen Gruppen: 105 ( $\pm 20$ )  $\mu\text{m}$  bei Kaukasiern, 114 ( $\pm 20$ )  $\mu\text{m}$  bei Afrikanern, 111( $\pm 20$ )  $\mu\text{m}$  bei Asiaten

### 3.2.3 Haarfollikeldichte an der Kopfhaut und im Bereich der Wade pro $\text{cm}^2$

Die Haarfollikeldichte an der Kopfhaut war mit der Cyanoacrylatabriss-Methode nicht bestimmbar. Bei Betrachtung der Kopfhautoberflächenbiopsien hat sich gezeigt, dass die Terminalhaarfollikel auf dem Cyanoacrylatabriss nur zum Teil vorhanden waren. Eine visuelle Follikelzählung ergab, dass auf den Cyanoacrylatbiopsien nur ca. 70% bis 80% der Terminalhaarfollikel vorhanden waren.

Auf den Cyanoacrylatabrissen im Bereich der Wade waren sowohl Vellus- als auch Terminalhaarfollikelabdrücke vollständig erhalten, deshalb war es hier möglich, die Follikeldichte zu ermitteln. Für Terminalhaarfollikeldichte ließen sich keine ethnischen Unterschiede feststellen. Die Vellushaarfollikeldichte war signifikant höher bei Asiaten im Vergleich zu Afrikanern und Kaukasiern ( $p < 0,05$ ) (Tab. 1). Die Kaukasier und Afrikaner wiesen doppelt so viele Terminalhaarfollikel als Vellushaarfollikel auf. Die Asiaten hatten eine vergleichbare Anzahl von beiden Haartypen (Tab. 2).

Tabelle 1: Terminal- und Vellushaarfollikeldichte im Bereich der Wade pro  $\text{cm}^2$

Follikel- dichte Probanden	Terminalhaarfollikel			Vellushaarfollikel		
	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten
1	10	9	11	4	9	9
2	11	8	8	4	4	8
3	6	7	6	4	3	4
4	11	8	7	6	5	9
5	11	10	7	4	3	9
6	9	11	9	6	5	8
<b>MW (<math>\pm</math>SD)</b>	<b>9,7 (<math>\pm 1,9</math>)</b>	<b>8,8 (<math>\pm 1,5</math>)</b>	<b>8 (<math>\pm 1,8</math>)</b>	<b>4,7 (<math>\pm 1</math>)</b>	<b>4,8 (<math>\pm 2,2</math>)</b>	<b>7,8 (<math>\pm 1,9</math>)</b>

Tabelle 2: Verhältnis Terminal (THF)- und Vellushaarfollikeldichte (VHF) im Bereich der Wade

	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten
Verhältnis THF : VHF	2 : 1	1,9 : 1	1 : 1

### 3.2.4 Der prozentuale Anteil der Follikelöffnungen an der Hautoberfläche im Bereich der Wade

Hierfür wurde die Follikelöffnungsfläche mit der Follikeldichte pro cm<sup>2</sup> multipliziert. Daraus ergab sich die gesamte Follikelöffnungsfläche, welche bei den Kaukasiern bei 0,4% (±0,06%), bei den Afrikanern bei 0,33% (±0,03%) und bei den Asiaten bei 0,35% (±0,05%) der Hautoberfläche lag.

### 3.2.5 Volumen des Follikelinfundibulums der Terminal- und Vellushaarfollikel an der Kopfhaut und im Bereich der Wade

Die Ergebnisse in Bezug auf das Volumen des Follikelinfundibulums an der Kopfhaut haben signifikante ethnische Unterschiede bei den Terminalhaarfollikeln gezeigt. Das durchschnittliche Volumen eines Terminalhaarfollikels war mit 0,017 mm<sup>3</sup> signifikant größer bei Kaukasiern im Vergleich zu Afrikanern (0,01 mm<sup>3</sup> (p<0,05)) und Asiaten (0,009 mm<sup>3</sup> (p<0,05)) (Abb. 18). Das Volumen des Follikels zeigte innerhalb der kaukasischen Probanden eine starke Variabilität. In dieser Gruppe betrug das größte Infundibulumvolumen 0,031 mm<sup>3</sup> und das kleinste 0,009 mm<sup>3</sup>. Die anderen zwei ethnischen Gruppen wiesen ähnliche Follikelinfundibulumvolumina auf und zeigten keine starken Unterschiede innerhalb der jeweiligen Probandengruppe.

Die ausgemessenen Volumina von Vellushaarfollikeln zeigten bei allen drei ethnischen Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

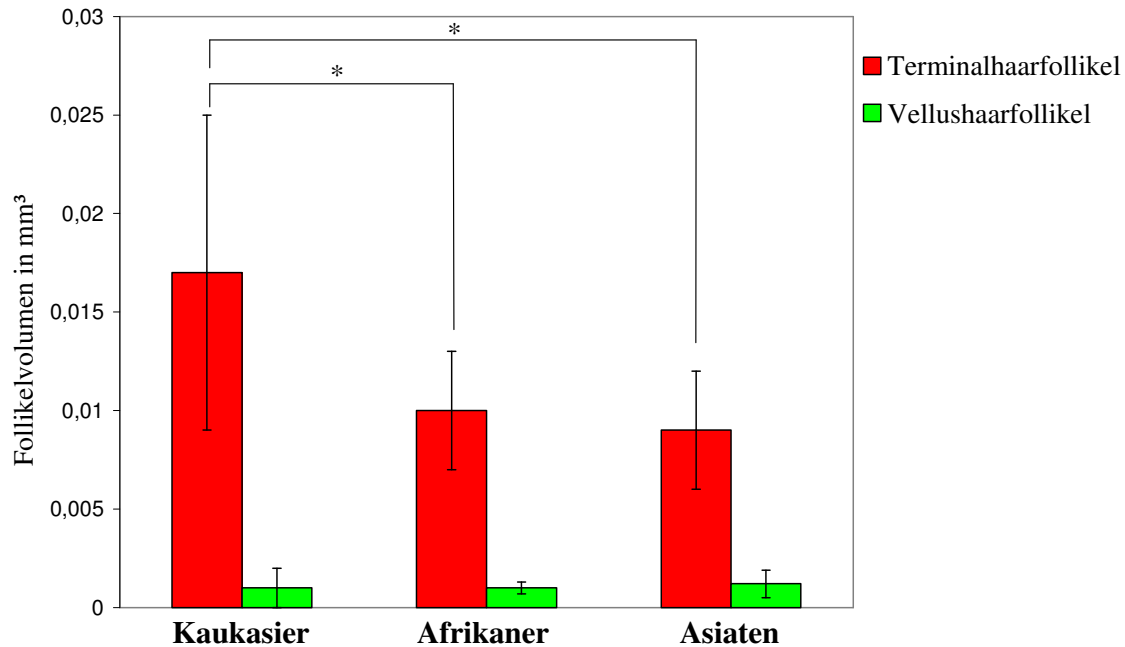


Abb. 18: Volumen der Terminal- und Vellushaarfollikel an der Kopfhaut in mm<sup>3</sup>  
 (\* p < 0,05)

Der Vergleich der Follikelvolumina im Bereich der Wade bei den drei ethnischen Gruppen hat weder für die Terminal- noch für die Vellushaare signifikante Unterschiede gezeigt. Die gemessenen Werte für die Terminalhaarfollikel verteilten sich folgendermaßen: Kaukasier (0,0093 mm<sup>3</sup>) > Asiaten (0,0074 mm<sup>3</sup>) > Afrikaner (0,0069 mm<sup>3</sup>) (Abb. 19). Für die Vellushaarfollikel wurde folgende Volumina festgestellt: Kaukasier 0,002 mm<sup>3</sup>, Asiaten 0,0015 mm<sup>3</sup>, Afrikaner 0,0014 mm<sup>3</sup>.

Bei der Penetrationsuntersuchung ist das Haarfollikelvolumen pro cm<sup>2</sup> Hautoberfläche wichtig. Es wird als Follikelreservoir bezeichnet. Dafür wurden die Volumina für die Vellus- und Terminalhaarfollikel für jeden Probanden mit der jeweiligen Follikeldichte multipliziert und Durchschnittswerte für die ethnischen Gruppen ermittelt (Abb. 20). Durch Addition der Follikelvolumina der Vellus- und Terminalhaarfollikel wurde die Größe des Follikelreservoirs pro cm<sup>2</sup> Hautoberfläche festgestellt. Die Follikelreservoirdaten wurden nur im Bereich der Wade ermittelt, weil dort die Follikeldichte bestimmt werden konnte. Es wurden folgende Gesamtfollikelvolumina festgestellt: für Kaukasier 0,104 (± 0,02) mm<sup>3</sup>/cm<sup>2</sup>, für Afrikaner 0,084 (± 0,02) mm<sup>3</sup>/cm<sup>2</sup> und für Asiaten 0,073 (± 0,02) mm<sup>3</sup>/cm<sup>2</sup> (Abb. 20). Somit zeigten die

Kaukasier insgesamt ein leicht größeres Follikelvolumen pro  $\text{cm}^2$  Hautoberfläche. Die ermittelten ethnischen Unterschiede waren nicht signifikant.

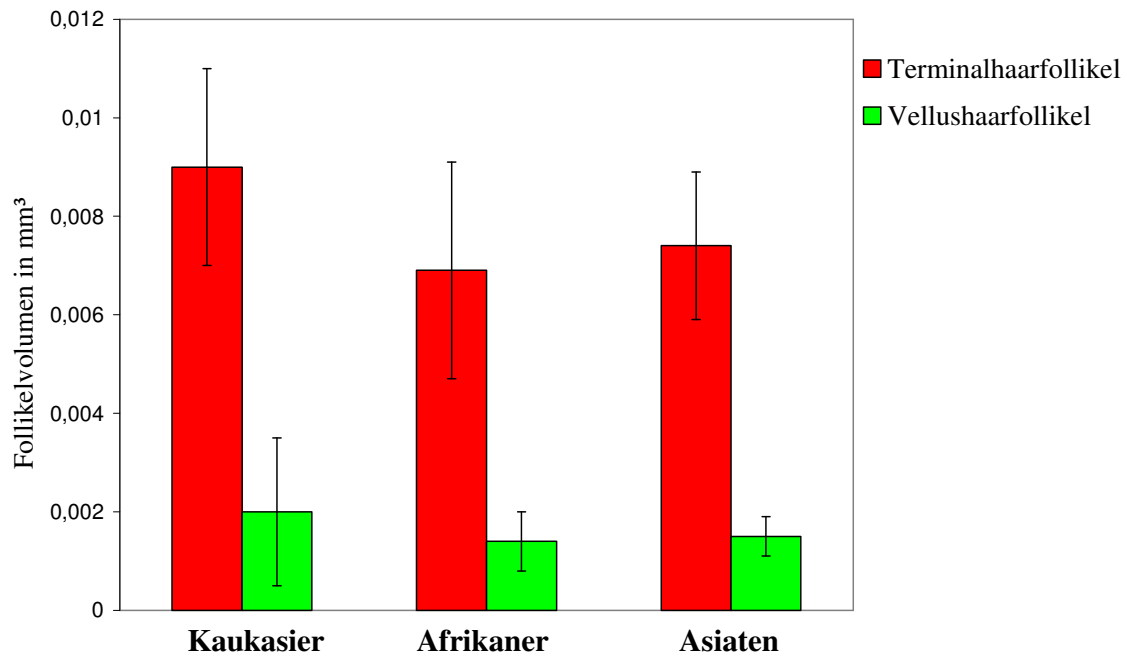


Abb.19: Volumen der Terminal- und Vellushaarfollikel im Bereich der Wade in  $\text{mm}^3$

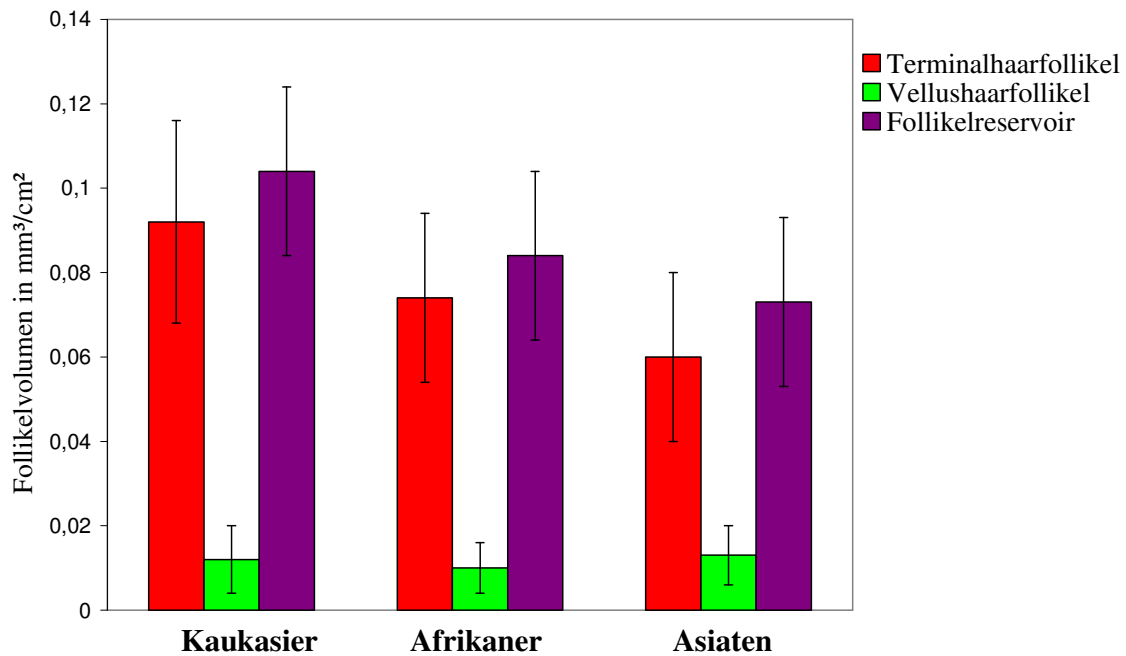


Abb. 20: Volumen der Terminal-, Vellushaarfollikel und das Follikelreservoir im Bereich der Wade in  $\text{mm}^3/\text{cm}^2$

### 3.2.6 Fläche des Follikelinfundibulums der Terminal- und Vellushaarfollikel an der Kopfhaut und im Bereich der Wade

Die Ergebnisse in Bezug auf die Fläche des Follikelinfundibulums haben signifikante ethnische Unterschiede bei den Terminalhaarfollikeln gezeigt. Die größte Infundibulumfläche wurde bei Kaukasierern mit  $0,42 \text{ mm}^2$  gemessen. Der Unterschied zur afrikanischen ( $0,29 \text{ mm}^2$ ) und asiatischen ( $0,31 \text{ mm}^2$ ) Gruppe war statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ) (Abb. 21). Die Fläche der Terminalhaarfollikel der Kaukasier hat innerhalb der Probanden stark variiert. In der kaukasischen Gruppe betrug die größte Infundibulumfläche  $0,65 (\pm 0,15) \text{ mm}^2$  und die kleinste  $0,3 (\pm 0,02) \text{ mm}^2$ . Die Afrikaner und die Asiaten zeigten innerhalb der jeweiligen Probandengruppe ähnliche Follikelvolumina. Die Infundibulumfläche der Vellushaare wies keine ethnischen Unterschiede auf.

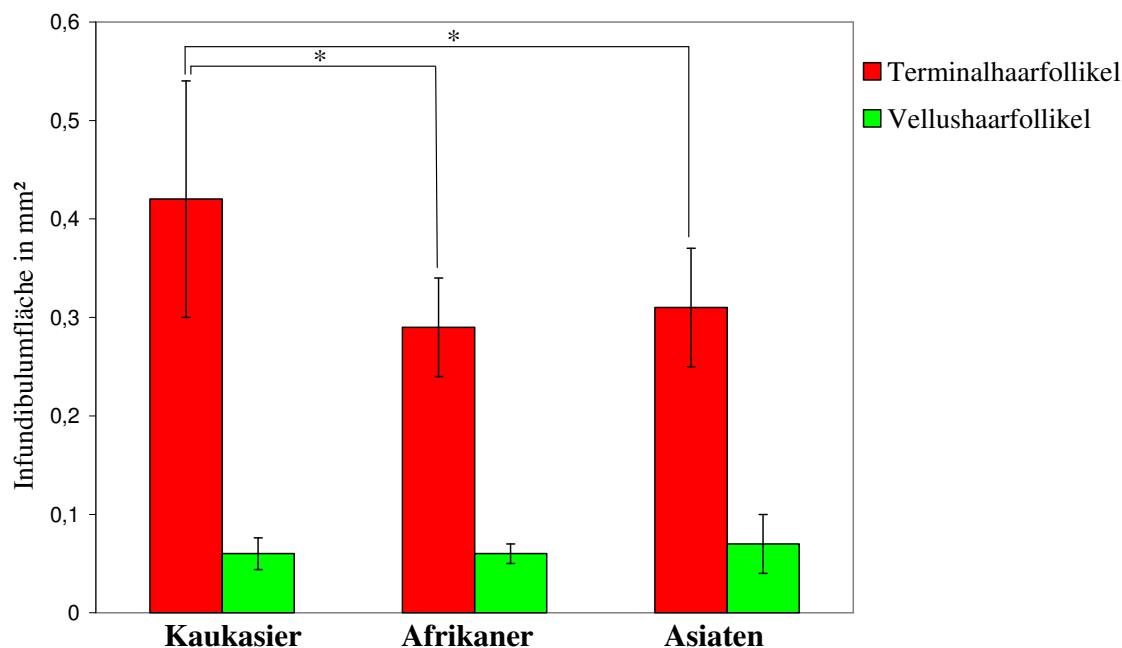


Abb. 21: Fläche der Follikelinfundibula der Terminal- und Vellushaare an der Kopfhaut in  $\text{mm}^2$  (\*  $p < 0,05$ )

Im Bereich der Wade zeigten die Ergebnisse der Infundibulumflächenmessungen für die einzelnen Haarfollikel keine signifikanten ethnischen Unterschiede. Die

gemessenen Werte für die Terminalhaarfollikel verteilten sich folgendermaßen: Kaukasier ( $0,27 \text{ mm}^2$ ) > Afrikaner ( $0,25 \text{ mm}^2$ ) > Asiaten ( $0,22 \text{ mm}^2$ ) (Abb. 22). Für die Vellushaarfollikel wurde folgende Infundibulumflächen ermittelt: Kaukasier  $0,06 \text{ mm}^2$ , Afrikaner  $0,072 \text{ mm}^2$ , Asiaten  $0,076 \text{ mm}^2$ .

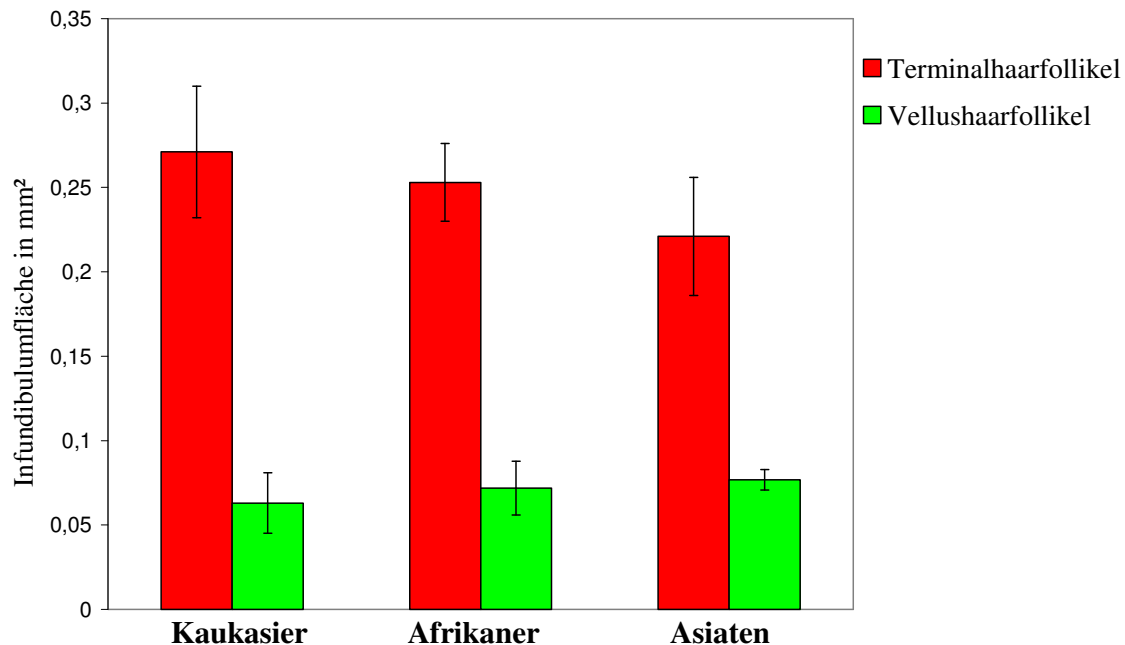


Abb. 22: Fläche der Follikelinfundibula der Terminal- und Vellushaare im Bereich der Wade in  $\text{mm}^2$

Wie bei den Ergebnissen für das Follikelresevoir erwähnt, war es möglich, im Bereich der Wade die Follikelinfundibulumfläche pro  $\text{cm}^2$  der Hautoberfläche zu bestimmen.

Die Fläche der Follikelinfundibula zeigte signifikante Unterschiede zwischen den ethnischen Gruppen sowohl für die Terminal- als auch für Vellushaarfollikel. Bei den Terminalhaarfollikeln haben die Kaukasier mit  $2,69 \text{ mm}^2/\text{cm}^2$  eine größere Follikelfläche als Asiaten mit  $1,77 \text{ mm}^2/\text{cm}^2$  ( $p < 0,05$ ). Die Werte für Afrikaner lagen mit  $2,27 \text{ mm}^2/\text{cm}^2$  dazwischen (Abb. 23). In Bezug auf die Vellushaarfollikel zeigten die Asiaten den größten Wert für die Vellushaarfollikelfläche mit  $0,61 \text{ mm}^2/\text{cm}^2$  im Vergleich zu Kaukasier mit  $0,30 \text{ mm}^2/\text{cm}^2$  ( $p < 0,05$ ) und Afrikanern mit  $0,36 \text{ mm}^2/\text{cm}^2$  (Abb. 23). Die Gesamtfollikelfläche ist ebenfalls ein wichtiger Parameter für die Hautpenetration. Sie stellt die zusätzlich zu Verfügung stehende Absorptionsfläche dar.



Hier wird die gemessene Infundibulumfläche für die Terminal- und Vellushaare addiert. Prozentual bedeutet dies bei Kaukasiern eine Fläche von 2,99 % ( $\pm 0.5\%$ ), Afrikanern 2,63% ( $\pm 0.5\%$ ) und Asiaten 2,38% ( $\pm 0.4\%$ ) von der Hautoberfläche auf der Wade.

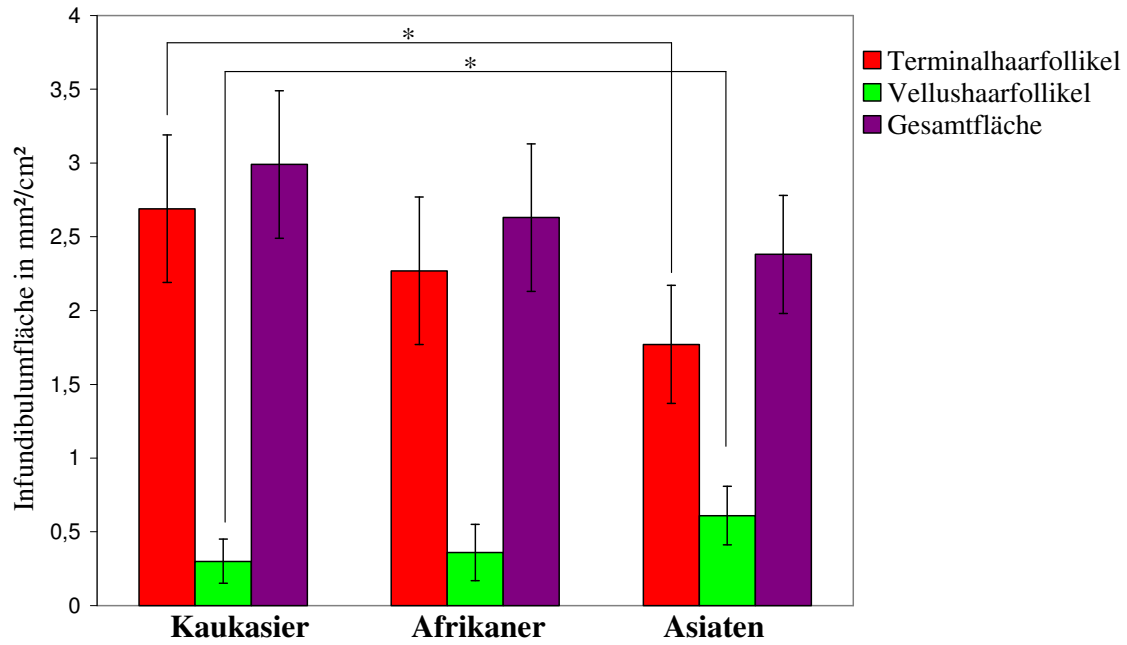


Abb. 23: Infundibulumfläche der Terminal-, Vellushaarfollikel und die Gesamtfläche im Bereich der Wade in mm²/cm² (\*  $p < 0,05$ )

### 3.3 Studienprotokoll C - Penetrationsmessung

#### 3.3.1 Penetration ins Stratum corneum

Die Penetration der Natriumfluoresceinlösung ins Stratum corneum und in die Haarfollikel wurde 30 min, 24 Std. und 96 Std. nach dem Auftragen untersucht.

Nach 30 min Penetrationszeit ins Stratum corneum wurden keine signifikanten Unterschiede bei den drei ethnischen Gruppen nachgewiesen (Tab. 3). Nach 24 Std. zeigten die asiatischen Probanden deutlich mehr Natriumfluorescein im Stratum corneum als andere Hauttypen. Der Unterschied zu Afrikanern war signifikant ( $p < 0,05$ ). Auch nach 96 Stunden Penetrationszeit war der Natriumfluoresceingehalt im Stratum corneum bei Asiaten deutlicher erhöht als bei Kaukasiern und Afrikanern. Sowohl im Vergleich zu Kaukasiern als auch zu Afrikanern war der Unterschied signifikant ( $p < 0,05$ ).

Tabelle 3: Penetration ins Stratum corneum nach 30 min., 24 h und 96 h

Probanden	30 min			24 h			96 h		
	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten
1	520	449	425	3,25	1,2	86	0,48	0,3	11,2
2	480	580	493	14,9	13,2	98	0,7	2,7	19
3	431	320	420	13	20,8	51	0,85	2,6	5,5
4	490	435	430	35	47	47	3,4	1,5	4,25
5	450	415	410	31,5	36,5	27	2,8	0,7	2
6	400	410	520	57	48	56	4,7	6,2	9,3
MW (±SD)	470 (±59)	467 (±99)	449 (±45)	29 (±16)	30 (±15)	60,8 (±26)	2,2 (±1,6)	2,4 (±2,1)	8,5 (±6)

### 3.3.2 Penetration in die Haarfollikel

Nach 30 min Penetrationszeit wurden keine signifikante Unterschiede bei der Follikelpenetration festgestellt (Tab. 4). Nach 24 Std. wurde bei den asiatischen Probanden doppelt so viel Natriumfluorescein in den Follikeln wiedergefunden wie bei Kaukasiern und Afrikanern. Die gemessenen Unterschiede waren sowohl im Vergleich zu den Kaukasiern als auch im Vergleich zu den Afrikanern signifikant ( $p < 0,05$ ).

Tabelle 4: Penetration in die Haarfollikel nach 30 min., 24 h und 96 h

Probanden	30 min			24 h			96 h		
	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten
1	12,8	3,3	5,4	1,43	0,63	2,3	0,3	0,3	0,47
2	7,6	5,3	5,8	0,76	0,62	0,97	0,32	0,45	0,4
3	6,7	4,2	4,6	0,4	1,08	1,3	0,2	0,44	0,33
4	6,4	5,2	6,9	0,95	1,4	3,7	0,3	0,34	0,75
5	6,5	4,2	7,9	0,9	0,6	2,1	0,34	0,3	0,43
6	10,3	2,9	6,1	2,5	0,64	2,5	0,8	0,32	0,9
<b>MW (±SD)</b>	<b>7,03 (±1,85)</b>	<b>5,05 (±1,9)</b>	<b>6,2 (±1,15)</b>	<b>1,05 (±0,73)</b>	<b>0,88 (±0,3)</b>	<b>2,15 (±0,9)</b>	<b>0,43 (±0,22)</b>	<b>0,37 (±0,06)</b>	<b>0,55 (±0,2)</b>

### 3.3.3 Prozentualer Anteil von Natriumfluorescein in den Follikeln und im Stratum corneum nach einer Penetrationszeit von 30 min

Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurden die aufgetragenen Mengen an Natriumfluorescein mit 100% gleichgesetzt und so der prozentuale Anteil an Substanz ermittelt, der in das Stratum corneum bzw. in die Haarfollikel penetriert ist.

Die Kaukasier zeigten mit bis zu 2,5 % eine bessere follikuläre Penetration als die anderen ethnischen Gruppen (Tab. 5). Der höchste Wert für den follikulären Anteil bei Afrikanern war 1,3 % und bei Asiaten 1,9 %.

Tabelle 5: Anteil an penetriertem Natriumfluorescein in die Haarfollikel und ins Stratum corneum in %

Probanden	Kaukasier	Afrikaner	Asiaten	
1	97,6	99,3	98,7	SC
	<b>2,4</b>	<b>0,7</b>	<b>1,3</b>	<b>Follikel</b>
2	98,4	99,1	98,8	SC
	<b>1,6</b>	<b>0,9</b>	<b>1,2</b>	<b>Follikel</b>
3	98,5	98,7	98,9	SC
	<b>1,5</b>	<b>1,3</b>	<b>1,1</b>	<b>Follikel</b>
4	98,7	98,8	98,4	SC
	<b>1,3</b>	<b>1,2</b>	<b>1,6</b>	<b>Follikel</b>
5	98,6	98,9	98,1	SC
	<b>1,4</b>	<b>1,1</b>	<b>1,9</b>	<b>Follikel</b>
6	97,5	99,3	98,9	SC
	<b>2,5</b>	<b>0,7</b>	<b>1,1</b>	<b>Follikel</b>
MW (±SD)	<b>98,2 (±0,4)</b>	<b>99 (±0,2)</b>	<b>98,6 (±0,3)</b>	SC
	<b>1,8 (±0,4)</b>	<b>1 (±0,2)</b>	<b>1,4 (±0,3)</b>	<b>Follikel</b>

## **4 Diskussion**

Im Rahmen dieser Arbeit wurde untersucht, ob verschiedene ethnische Gruppen (Kaukasier, Afrikaner, Asiaten) Unterschiede in Bezug auf hautphysiologische Parameter, Haar- und Follikelmorphologie sowie das interzelluläre und follikuläre Penetrationsverhalten von topisch applizierter Substanz aufweisen.

### **4.1 Hautparameter bei drei ethnischen Gruppen**

Die untersuchten hautphysiologischen Parameter TEWL und Hautfeuchte zeigten keine signifikanten Unterschiede. Dies stimmt mit den meisten publizierten Daten überein [10, 11, 13, 14]. Einige Autoren berichteten jedoch über höhere TEWL-Werte bei Afrikanern [2, 12]. Eine entsprechende Tendenz lässt sich auch in den vorliegenden Daten erkennen. Die Afrikaner zeigten einen etwas höheren TEWL-Wert und einen niedrigeren Wassergehalt im Stratum corneum im Vergleich zu den Kaukasiern. Bei den Asiaten waren die Unterschiede zu den Kaukasiern noch stärker ausgeprägt. In Zusammenschau mit weiteren publizierten Daten lässt sich vermuten, dass vor allem die asiatischen Probanden, aber auch die Afrikaner eine etwas schlechtere Hautbarrierefunktion haben als die Kaukasier. Für eine sichere Aussage sind jedoch weitere Untersuchungen und vor allem eine größere Probandenzahl erforderlich.

Die Ergebnisse der pH-Wert-Messung zeigten ebenfalls keine ethnischen Unterschiede. Dies stimmt mit den publizierten Daten überein [13, 14]. Den signifikant unterschiedlichen pH-Wert bei Afrikanern und Kaukasiern konnten Berardeska et al. erst nach einigen Abrissen des Stratum corneum messen; nach dem dritten und sechsten Abriss war der Haut-pH-Wert bei Afroamerikanern deutlich kleiner als bei Kaukasiern. Der pH-Wert der Haut vor den Abrissen war in beiden Gruppen ähnlich und betrug 4,8 bei den Afroamerikanern und 5,0 bei den Kaukasiern [14], im Rahmen der vorliegenden Arbeit lagen die Werte bei 5,4 bzw. 5,2.

Obwohl der gemessene Sebumwert ebenfalls keine signifikanten ethnischen Unterschiede gezeigt hat, wiesen die Afrikaner teilweise deutlich höhere Sebumwerte auf als die Kaukasier und Asiaten bei starken interindividuellen Unterschieden.

Insgesamt sind hierzu wenige Daten veröffentlicht. Pochi und Strauss haben den Sebumwert auf der Stirn separat bei Männern (30 Afrikaner, 373 Kaukasier) und Frauen (37 Afrikaner und 209 Kaukasier) getestet. Es wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Bei männlichen Probanden war die Sebumproduktion der Afrikaner im Vergleich zu Kaukasiern geringfügig erhöht. Demgegenüber zeigten die kaukasischen Frauen eine höhere Sebumproduktion [68]. Grimes et al. fanden ebenfalls keine signifikanten ethnischen Unterschiede in Bezug auf den gemessenen Sebumgehalt [13].

Beim Vergleich der Hautrauhigkeit wurden gleichfalls keine ethnischen Unterschiede festgestellt. Die interindividuelle Datenvariabilität war deutlich größer als bei den verschiedenen ethnischen Gruppen (Abb. 12). Ein Grund hierfür kann das relativ niedrige Alter der Probanden sein, das zwischen 22 bis 30 Jahren lag. In diesem Lebensaltersabschnitt sind noch keine gravierenden Umbauprozesse der Hautstruktur eingetreten. Eine andere Erklärung ist die von uns gewählte Körper-Messstelle. Wir haben die Hautrauhigkeit auf der nicht Licht-exponierten Unterarminnenseite untersucht. Der Unterarm ist eine Hautregion ohne tiefe Furchen und Falten. Fujimura et al. haben mit der gleichen Methode die stärker ausgeprägte Augenfaltpartie (sog. Krähenfüße) bei deutschen, chinesischen und japanischen Frauen untersucht. Sie haben hier auch für die Gruppe der 20- bis 30- jährigen Frauen signifikante ethnische Unterschiede festgestellt. Deutsche und chinesische Frauen wiesen tiefere Falten auf als Japanerinnen. Bei der Unterlidmessung hatten die deutschen Probandinnen in fast allen Altersgruppen stärker ausgeprägtere Falten als die chinesischen und japanischen Studienteilnehmerinnen [25]. Zwei weitere Studien, die visuelle Test-Scores zur Faltenanalyse im Gesicht verwendeten, berichten über das zeitigere Auftreten von Falten und die größere Faltentiefe bei Kaukasierinnen verglichen mit asiatischen Frauen [23, 24]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass am Unterarm bei den 20- bis 30- jährigen Männern keine ethnischen Unterschiede vorliegen. Für weitere Untersuchungen empfiehlt sich ein Vergleich von weiteren Körperarealen und zusätzlichen Altersgruppen.

Die Ergebnisse der Antioxidantienmessung zeigen sehr starke ethnische Unterschiede im Bereich der Stirn, jedoch keine Unterschiede im Bereich der Palmarseite der Hand.

Abb. 13 zeigt, dass im Bereich der Stirn die  $\beta$ -Karotinkonzentration bei Kaukasiern fast zehnmal höher ist als bei den Afrikanern und doppelt so hoch wie bei den Asiaten. Die Lykopinkonzentration zeigte fünfmal höhere Werte bei Kaukasiern im Vergleich zu Afrikanern und doppelt so hohe Werte im Vergleich zu den Asiaten.

Im Bereich der Handballen waren keine signifikanten Unterschiede für die  $\beta$ -Karotin- und Lykopinkonzentration nachweisbar (Abb. 14).

Eine Erklärung für die Unterschiede bietet die Melaninverteilung. In Bezug auf die Melaninverteilung zeigte sich bei den Afrikanern eine deutlich höhere Melaninmenge als bei den Kaukasiern und Asiaten. Bei den Asiaten zeigte sich wiederum eine etwas höhere Melaninmenge als bei den Kaukasiern (Abb. 15). Es ist bekannt, dass Melanin die Strahlung vor allem im sichtbaren UV-Spektrum absorbiert. Die in dieser Studie für die Antioxidantienmessung verwendeten Wellenlängen betragen 488 und 514,5 nm und gehören zum sichtbaren Spektrum. Das Melanin beeinflusst die Antioxidantienmessung negativ, da es diese Wellenlängen absorbiert. Die Folge ist, dass bei Probanden mit höherem Melaningehalt eine niedrigere Antioxidantienkonzentration gemessen wird. Die sehr starken ethnischen Unterschiede in Bezug auf die  $\beta$ -Karotin- und Lykopinkonzentration an der Stirn können also als Artefakt gewertet werden.

Auf der Palmarseite der Hand haben alle ethnischen Gruppen einen gleich niedrigeren Melaningehalt. Die Antioxidantienmessungen zeigten im Bereich der Handballen keine ethnischen Unterschiede. Für die Lykopinkonzentration wurde bei Afrikanern ein höherer Wert erhoben als bei den beiden anderen ethnischen Gruppen.

Um eine präzisere Aussage zu treffen, sind weitere Untersuchungen der Antioxidantienverteilung in der Haut erforderlich. Dies war Rahmen dieser Studie nicht möglich. Untersuchungen zu diesem Thema werden Gegenstand weiterer Studien sein. Dies ist von großem Interesse, da zurzeit keine Studien über den Einfluss von ethnischen Hauttypen auf den Antioxidantiengehalt in der Haut veröffentlicht sind.

Für die Analyse der Melaninverteilung wurden Laser-Scan-Mikroskop-Bilder von verschiedenen Epidermisschichten bis in die Dermis aufgenommen und verglichen. Die Melaninverteilung in der Haut entsprach den publizierten Daten [32, 34]. Das Melanin war bei den Afrikanern vermehrt in allen Epidermisschichten vorhanden. Auffallend waren besonders die Bilder von den basalen Schichten. Sie zeigen deutlich,

dass sich bei den Afrikanern entlang der Basalmembran viele Melanosomen mit Melanin befinden. Bei den Kaukasiern und Asiaten fand sich das Melanin hauptsächlich und in geringerer Menge in der oberflächlichen Epidermis.

## **4.2 Follikel- und Haarparameter an der Kopfhaut und im Bereich der Wade bei drei ethnischen Gruppen**

### **4.2.1 Haardurchmesser**

Am erwachsenen menschlichen Körper finden sich vornehmlich 2 verschiedene Haarfollikel. Haare bis 30  $\mu\text{m}$  Durchmesser werden zu den Vellushaaren gezählt, ab 30  $\mu\text{m}$  gelten die Haare als Terminalhaare.

Der Durchmesser der Haare verändert sich abhängig von der Körperregion. Es ist bekannt, dass am Kopf der Haardurchmesser größer ist als auf der Wade. Die vorliegenden Ergebnisse für die Kopfhautregion zeigen, dass die Asiaten mit 78  $\mu\text{m}$  den größten Terminalhaardurchmesser aufwiesen (Abb. 16). Er ist signifikant größer im Vergleich zu den Kaukasiern (67  $\mu\text{m}$ ) und Afrikanern (62  $\mu\text{m}$ ) ( $p < 0,05$ ). Die interindividuellen Ergebnisse zeigten jedoch große Schwankungen. Der Haardurchmesser bei Kaukasiern reichte von 59 bis 84  $\mu\text{m}$  und bei Asiaten von 69 bis 98  $\mu\text{m}$ , was mit den publizierten Daten übereinstimmt [49]. Die afrikanischen Probanden hatten insgesamt dünnere Terminalhaare (55 bis 67  $\mu\text{m}$ ). Franbourg et al. berichteten ebenfalls, dass die Afrikaner an der Kopfhaut mit 55  $\mu\text{m}$  den kleinsten Haardurchmesser aufweisen. Sie konnten bei den Afrikanern jedoch auch den größten Durchmesser (98  $\mu\text{m}$ ) nachweisen [49].

Die Vellushaare an der Kopfhaut haben keine ethnischen Unterschiede gezeigt. Der Vellushaardurchmesser lag im Durchschnitt bei 20 bis 22  $\mu\text{m}$ .

Der Durchmesser der Terminalhaare auf der Wade zeigte ebenfalls keine ethnischen Unterschiede. Der Haardurchmesser für die einzelnen Probanden reichte von 55 bis 72  $\mu\text{m}$  bei Kaukasiern, von 50 bis 62  $\mu\text{m}$  bei Afrikanern und von 32 bis 68  $\mu\text{m}$  bei Asiaten.

Der Durchmesser der Vellushaare auf der Wade betrug bei Afrikanern 21,6  $\mu\text{m}$  und war signifikant größer als bei Kaukasiern 17,6  $\mu\text{m}$  ( $p < 0,05$ ). Die Vellushaare von



Asiaten mit 19,5  $\mu\text{m}$  lagen dazwischen. Die erhobenen Daten für die Afrikaner und die Asiaten entsprechen den publizierten Daten [59].

#### **4.2.2 Haarfollikeldichte**

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Cyanoacrylatbiopsien von der Wade und der Kopfhautregion entnommen. Die Follikeldichte konnte nur auf den Cyanoacrylatbiopsien im Bereich der Wade bestimmt werden. Für die Kopfhautbiopsien hat sich gezeigt, dass die Infundibula der Terminalhaarfollikel auf dem Cyanoacrylatabriss nur zum Teil vorhanden waren. Die Erklärung dafür kann die feste Verankerung von Terminalhaaren im Kopfhautfollikel sein. Das an den Haaren festklebende Cyanoacrylat verblieb im Infundibulum. In diesem Fall fehlte der Follikelabdruck auf dem Abriss. Eine visuelle Follikelzählung ergab, dass auf den Cyanoacrylatbiopsien ca. 70% bis 80% der Terminalhaarfollikel vorhanden waren. Die Cyanoacrylatabriss-Methode erwies sich für die Dichtebestimmung auf der Kopfhautregion daher als ungeeignet.

Über die Haarfollikeldichte auf dem Kopf wurden bereits viele Studien veröffentlicht, und einige davon haben ebenfalls die Follikeldichteunterschiede bei den ethnischen Gruppen untersucht [48, 50, 51, 52, 53, 54, 55]. Die publizierten Ergebnisse zeigen, dass die Haardichte an der Kopfhaut zum einen von dem gewählten Areal abhängt und zum anderen starke interindividuelle Schwankungen aufweist. Auch können methodische Unterschiede zur Datendiskrepanz beigetragen haben. Loussouarn et al. haben mit dem Phototrichogramm die Follikeldichte auf der Temporal-, Okzipital- und Vertexregion bestimmt. Die Zahlen reichen von 49 bis 390 Haare/cm<sup>2</sup> bei Afrikanern, von 78 bis 333 Haare/cm<sup>2</sup> bei Asiaten und von 80 bis 488 Haare/cm<sup>2</sup> bei Kaukasiern. Bei allen drei Gruppen war folgende Follikeldichteverteilung zu sehen: Vertexregion > Temporalregion > Okzipitalregion. Die Ergebnisse zeigen, dass die Kaukasier im Durchschnitt eine höhere Haardichte im Kopfbereich haben als die Asiaten und Afrikaner [51]. Weitere Studien von Whiting, Tsai, Lee und Sperling bestätigen diese Ergebnisse und weisen ebenfalls die höhere Haardichte auf dem Kopf bei Kaukasiern nach [48, 53, 54, 55].

Auch an anderen Körperregionen wurde die Follikeldichte untersucht. Otberg et al. fanden, dass Kaukasier auf dem Unterschenkel im Durchschnitt 14 Haarfollikel pro  $\text{cm}^2$  haben [58]. Mangelsdorf et al. konnten keine signifikante Diskrepanz in Follikeldichte auf der Wade bei Afrikanern und Asiaten im Vergleich zu Kaukasiern feststellen. Die Daten zeigen jedoch folgende Tendenz: Kaukasier > Afrikaner > Asiaten. Signifikante Dichteunterschiede konnten bei der Analyse von 7 Körperregionen nur auf der Stirnregion festgestellt werden ( $p < 0,001$ ). Kaukasier haben mit  $292/\text{cm}^2$  die höchste Follikeldichte gezeigt. Danach folgten die Afrikaner mit  $189/\text{cm}^2$  und die Asiaten mit  $138/\text{cm}^2$  [59].

Im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit wurde die Follikeldichte auf der Wade bei den drei ethnischen Gruppen für die Terminal- und Vellushaare einzeln bestimmt. Wie aus der Tabelle 13 ersichtlich ist, besaßen die Kaukasier im Durchschnitt 15 Follikel pro  $\text{cm}^2$  (10 Terminal- und 5 Vellushaarfollikel). Die afrikanischen Probanden wiesen 14 Haarfollikel pro  $\text{cm}^2$  (9 Terminal- und 5 Vellushaare) auf. Die Follikeldichte war mit 16 Follikeln pro  $\text{cm}^2$  bei den Asiaten am größten (8 Terminal- und 8 Vellushaare). Die Vellushaardichte war signifikant höher bei den Asiaten als bei den Afrikanern und Kaukasiern ( $p < 0,05$ ). Die Daten für die gesamte Haardichte zeigten keine signifikanten ethnischen Unterschiede, was mit den publizierten Daten übereinstimmt [59]. Die etwas andere Dichteverteilung: Asiaten > Kaukasier > Afrikaner hat bei dieser Größenordnung keine Bedeutung.

#### **4.2.3 Haarfollikelgröße**

Die Haarfollikel sind die Einstülpungen der Epidermis und vergrößern deshalb die Hautoberfläche für die Penetration. Die Follikelgröße ist daher für die Reservoirfunktion des Follikels von Bedeutung. Als Follikelreservoir wird der Haarfollikelanteil pro Hautoberfläche bezeichnet, welcher zusätzlich für die Aufnahme von topisch applizierter Substanz zur Verfügung steht.

Die Follikel werden üblicherweise in histologischen Schnitten mit Hilfe der Mikroskopie untersucht. Dafür werden horizontale und vertikale Gewebsschnitte verwendet [46]. Die Präparation der histologischen Schnitte kann jedoch zu Artefakten im Gewebe führen. Mit der Cyanoacrylatbiopsie ist es möglich in vivo einen

Follikelabguss, der den oberen Teil des Haarfollikels, das Follikelinfundibulum, darstellt, zu gewinnen. Diese sog. Follikelbiopsie ermöglicht es, Fläche, Volumen und Follikelöffnung zu messen bzw. zu errechnen. Mit dieser Methode wurden bereits die Haarfollikel mehrerer Körperareale sowohl bei Kaukasiern [58] als auch bei den anderen ethnischen Gruppen untersucht [59]. Im Bereich der behaarten Kopfhaut wurden bisher keine Cyanoacrylatbiopsien durchgeführt.

- **Anteil der Follikelöffnung an der Hautoberfläche**

Der Anteil der Hautanhangsgebilde an der Hautoberfläche wurde lange Zeit auf etwa 0,1% geschätzt und daher bei der Beurteilung von Penetrationsuntersuchungen vernachlässigt [1]. Erst vor kurzem wurde festgestellt, dass die Follikelöffnungen abhängig vom Körperareal eine unterschiedliche Größe haben. Im Bereich des Unterarms sind die 0,1% zutreffend, im Bereich anderer Regionen erreichen die Follikelöffnungen einen weitaus größeren Anteil. Auf der Stirn machen die Follikelöffnungen 1,28% und an der Wade 0,35% der Hautoberfläche aus [58]. Den vorliegenden Daten zufolge beläuft sich der Follikelanteil an der Wadenoberfläche bei Kaukasiern auf 0,4%, was mit den Ergebnissen von Otberg et al. übereinstimmt. Die anderen beiden ethnischen Probandengruppen zeigten ähnliche Daten. Die Fläche der Follikelöffnung auf der Wade betrug bei den Afrikanern 0,33% und bei den Asiaten 0,35%.

Insgesamt unterliegen die Durchmesser der Follikelöffnungen hohen Schwankungen. Der Vergleich der Mittelwerte von Follikeldurchmessern an der Wade zeigte keine ethnischen Unterschiede. Im Bereich der Kopfhaut wiesen dagegen Terminal- und Vellushaarfollikel unterschiedliche Follikelöffnungsdurchmesser bei den ethnischen Gruppen auf. An der Kopfhaut war der Terminalhaarfollikeldurchmesser bei den Kaukasiern mit 259  $\mu\text{m}$  größer als bei den anderen zwei Hauttypen (Afrikaner 214  $\mu\text{m}$  und Asiaten 216  $\mu\text{m}$ ). Der Vergleich von kleinen und großen Terminalhaarfollikelöffnungen zeigt auch bei Kaukasiern (221 bis 327  $\mu\text{m}$ ) deutlich höhere Werte als bei Afrikanern (187 bis 241  $\mu\text{m}$ ) und Asiaten (182 bis 266  $\mu\text{m}$ ). Der Vellushaarfollikeldurchmesser im Bereich der Kopfhaut war bei den drei ethnischen Gruppen ähnlich.

- **Volumen des Follikelfundibulum**

Das Follikelfundibulum stellt neben dem Stratum corneum ein zusätzliches Reservoirvolumen für die Penetration von topisch applizierten Substanzen dar. Das Stratum corneum hat etwa eine Dicke von 10  $\mu\text{m}$ . Daraus ergibt sich ein Volumen von 1  $\text{mm}^3/\text{cm}^2$ . Das Follikelvolumen ist abhängig von der zu untersuchenden Körperregion unterschiedlich. Es hängt von der Follikeldichte und -größe ab. Auf der Stirn macht es 0,19  $\text{mm}^3/\text{cm}^2$  der Hautoberfläche aus. Das ist ein Fünftel vom Stratum corneum-Volumen und sollte daher bei der Penetration berücksichtigt werden [58]. Die oben genannten Volumina stehen nicht vollständig als Reservoir zur Verfügung. Zum einen ist das Stratum corneum keine homogene Schicht. Die applizierte Substanz verteilt sich so, dass die Konzentration von oben nach unten abnimmt. Bei den meisten Substanzen befinden sich etwa 99% der Substanz in den oberen 20% des Stratum corneum. In tieferen Schichten finden sich nur sehr geringe Mengen [43]. Zum anderen sind die Follikelfundibula mit abgeschilferten Epithel und Sebum teilweise ausgefüllt und können nicht das ganze Volumen für die Substanzaufnahme bereitstellen [45].

Mangelsdorf et al. haben das Follikelreservoir an mehreren Körperarealen bei den drei ethnischen Gruppen verglichen, mit dem Ergebnis, dass die Kaukasier fast überall ein größeres Follikelreservoir haben als die Afrikaner und Asiaten. Lediglich am Unterarm zeigten die Afrikaner, auf dem Oberarm dagegen die Asiaten höhere Werte [59]. In der vorliegenden Arbeit wurde das Follikelvolumen pro  $\text{cm}^2$  Hautoberfläche auf der Wade bei den drei ethnischen Gruppen bestimmt, um im folgenden Schritt die Ergebnisse mit der Hautpenetration an derselben Stelle zu vergleichen. Obwohl die vorliegenden Ergebnisse für das Follikelvolumen keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei ethnischen Gruppen zeigten, wird ersichtlich, dass die Kaukasier auf der Wade das größte Follikelreservoir aufweisen. Wie bei den anderen Follikelgrößen zeigte auch hier das gemessene Infundibulumreservoir sehr starke interindividuelle Schwankungen.

Im Bereich der Kopfhaut wurden die durchschnittlichen Follikelvolumina bei den drei Hauttypen gemessen. Wiederum zeigten hier die Kaukasier die größeren

Follikelinfundibula. Das Volumen des Terminalhaarfollikels war mit  $0,017 \text{ mm}^3$  signifikant größer im Vergleich zu den Afrikanern mit  $0,01 \text{ mm}^3$  ( $p < 0,05$ ) und den Asiaten mit  $0,009 \text{ mm}^3$  ( $p < 0,05$ ).

Da die Kaukasier im Bereich der Kopfhaut eine höhere Haardichte haben als die Afrikaner und Asiaten [48, 53, 54, 55], ist davon auszugehen, dass die Bestimmung des Follikelreservoirs und der Vergleich mit dem Penetrationsprofil an der Kopfhaut viel größere ethnische Unterschiede aufdecken würde.

- **Fläche des Follikelinfundibulum**

Die Epithelauskleidung des oberen Teils des Haarfollikels stellt eine Vergrößerung der Penetrationsfläche dar. Abhängig vom Körperareal verändert sich die Follikeldichte und -größe und somit auch die Fläche des Follikelinfundibulums pro  $\text{cm}^2$  Haut. Die größte Infundibulumfläche wurde auf der Stirn erhoben, was mit der hohen Follikeldichte zusammenhängt [58].

Die Infundibulumfläche zeigte starke interindividuelle Schwankungen. Der Vergleich der ethnischen Gruppen zeigte, dass die Kaukasier eine signifikant größere Infundibulumfläche der Terminalfollikel pro  $\text{cm}^2$  Haut im Bereich der Wade haben als Asiaten ( $p < 0,05$ ) (Abb. 23). Die Afrikaner lagen mit ihren Werten dazwischen. Obwohl die gemessenen Daten mit den publizierten nicht exakt übereinstimmen, wurde die gleiche Verteilung bezüglich der Flächengröße festgestellt: Kaukasier zeigten eine größere kumulative Infundibulumfläche als Afrikaner und Asiaten [59]. Im Zusammenhang mit der Penetration war es vor allem wichtig, den follikulären Anteil an der Hautoberfläche zu bestimmen. Entsprechend der vorliegenden Daten besitzen die Kaukasier etwa 3%, die Afrikaner 2,6% und die Asiaten 2,4% an zusätzlicher Penetrationsfläche im Bereich der Wade.

Der Vergleich von durchschnittlicher Infundibulumfläche im Bereich der Kopfhaut zeigte wiederum signifikant größere Werte bei den kaukasischen Probanden im Vergleich zu den zwei anderen ethnischen Gruppen ( $p < 0,05$ ). Die Infundibulumfläche für die Terminalhaarfollikel betrug bei den Kaukasiern  $0,42 \text{ mm}^2$ , bei den Afrikanern  $0,29 \text{ mm}^2$  und bei den Asiaten  $0,31 \text{ mm}^2$ .

### 4.3 Follikelpenetration bei drei ethnischen Gruppen

Es gibt viele Studien, die nachgewiesen haben, dass die Haarfollikel bei der Hautpenetration eine wichtige Rolle spielen [40, 41, 42, 44, 45, 60, 61, 62]. In einigen Studien wurde versucht, den follikulären Anteil zu quantifizieren [41, 45, 60, 61]. Andere Autoren haben dagegen das Follikelreservoir auf den verschiedenen Körperregionen gemessen [58, 59]. Der Zusammenhang zwischen Follikelgröße und Penetration wurde bislang jedoch noch nicht untersucht.

Das Ziel dieser Arbeit war es festzustellen, ob die Follikelgröße die Follikelpenetration beeinflusst. Gleichzeitig sollte die Penetration in die Follikel und in das Stratum corneum bei den ethnischen Gruppen verglichen werden.

Die Menge an penetriertem Natriumfluorescein wurde 30 min, 24 und 96 Stunden nach topischer Applikation im Stratum corneum und in den Haarfollikeln bestimmt. Die erste Untersuchung nach 30 min zeigte an, wieviel Farbstoff tatsächlich in das Stratum corneum und in die Follikel penetriert ist. Die Untersuchungen nach 24 und 96 Stunden zeigten, wieviel Farbstoff in den Follikeln und im Stratum corneum über diesen Zeitraum gespeichert wurde. Im Laufe der Zeit wird der applizierte Stoff mit der Kleidung von der Hautoberfläche abgerieben und mit dem Sebum aus den Follikeln nach außen befördert.

Es wurde untersucht, ob die Menge an Farbstoff, die nach 30minütiger Penetrationszeit in den Haarfollikeln gemessen wurde, mit der Follikelgröße korreliert. Für Follikelreservoir und -penetration waren zwar keine signifikanten ethnischen Unterschiede nachweisbar, jedoch zeigten die Kaukasier sowohl ein größeres Follikelreservoir als auch eine bessere Follikelpenetration. Die Ergebnisse für die Afrikaner und Asiaten lassen keine verbindlichen Aussagen zu. Diese Daten stützen die publizierten Ergebnisse über das Follikelreservoir an der Wade [59].

Nach 30minütiger Penetrationszeit konnte bei den Kaukasiern von der applizierten Natriumfluoresceinmenge maximal 2,5% in den Follikeln und 97,5% im Stratum corneum nachgewiesen werden. Teichmann et al. haben die Penetration von Natriumfluorescein mit dem gleichen Differential-Abriss-Verfahren untersucht. Die Untersuchungen wurden auf dem Rücken durchgeführt. Nach 30 min Penetrationszeit

wurde 5% Natriumfluorescein in den Follikeln und 95% im Stratum corneum nachgewiesen [45]. Eine andere Studie ergab, dass das Follikelreservoir auf der Rückenhaut 0,11 mm<sup>3</sup>/cm<sup>2</sup> beträgt [58]. Dieser Wert ist dem in der vorliegenden Studie gemessenen Volumen von 0,10 mm<sup>3</sup>/cm<sup>2</sup> an der Wade ähnlich. Das bedeutet, dass bei einem fast gleich großen Follikelreservoir an der Wade und auf dem Rücken weniger Natriumfluorescein in die Wadenfollikel penetriert ist im Vergleich zur Studie von Teichmann et al. Diese Datendiskrepanz für die folliculäre Penetration bei Kaukasiern lässt sich folgendermaßen erklären.

Aus den zitierten Publikationen ist bekannt, dass für die Penetration neben der Follikelgröße auch die Follikelphysiologie wichtig ist. Die Haarfollikel sind teilweise mit Talg und abgeschilferten Epithelzellen ausgefüllt [45]. Darüber hinaus zeigten Otberg et al., dass die Follikel, die weder Talgproduktion noch Haarwachstum haben, nicht an der Penetration teilnehmen. Es sind sog. „geschlossene Follikel“ [63]. Möglicherweise sind die Haarfollikel an der Wade vermehrt mit Sebum gefüllt, so dass sie weniger Substanz aufnehmen können oder/und es finden sich in diesem Bereich mehr „geschlossene“ Follikel als auf dem Rücken.

Andererseits stammen die oben erwähnten Daten für die Follikelpenetration und die Follikelgröße auf dem Rücken aus zwei verschiedenen Studien [45, 58]. Die Penetration wurde bei einer Probandengruppe und die Follikelgröße bei einer anderen gemessen. Das heißt, die teilweise großen interindividuellen Unterschiede müssen hier mit berücksichtigt werden. Daher war es wichtig, sowohl die Penetration als auch das Follikelreservoir an der gleichen Stelle und bei denselben Probanden zu prüfen, um eventuelle ethnische Unterschiede aufzudecken.

Der Anteil der folliculären Penetration war bei den Afrikanern und Asiaten geringer als bei den Kaukasiern. Die afrikanischen Probanden zeigten 0,7 bis 1,3% der applizierten Substanz in den Follikeln und 99,3 bis 98,7 % im Stratum corneum; die Asiaten wiesen eine folliculäre Penetration von 1,1 bis 1,9% und eine interzelluläre Penetration von 98,9 bis 98,1% auf. Zur folliculären Penetration bei Afrikanern und Asiaten gibt es keine vergleichbaren Studien.

Wie oben erwähnt, wurde für die Follikelpenetration nach 30 min. kein signifikanter Unterschied innerhalb der drei ethnischen Gruppen gemessen. Das war auch für das Stratum corneum nach 30-minütiger Penetrationszeit der Fall.

Die Penetration bei verschiedenen ethnischen Gruppen wurde bisher wenig untersucht. Viele Studien haben nur die Penetrationsgeschwindigkeit gemessen, indem sie den Wirkungseintritt bei den ethnischen Gruppen verglichen [2, 19, 35]. Es wurde nur eine Studie, welche die Penetration in die Epidermis mittels Abrissmethode bei verschiedenen ethnischen Gruppen untersucht hat, veröffentlicht. In dieser Studie von Lotte et al. wurden bei Kaukasiern, Asiaten und Afrikanern mehrere Substanzen auf die Haut appliziert. Nach 30 Minuten und nochmals nach vier Tagen wurde das Stratum corneum untersucht. Zwar zeigten die Kaukasier und die Asiaten die besseren Penetrationswerte ins Stratum corneum im Vergleich zu der afrikanischen Gruppe, signifikante Unterschiede wurden jedoch nicht festgestellt [36]. Das stimmt mit den vorliegenden Daten überein.

Die Untersuchungen der Follikelinhalte und des Stratum corneum nach längerer Penetrationszeit (24 Std und 96 Std) zeigten, dass die Asiaten ein besseres Speichervermögen haben. Sie speichern deutlich mehr Natriumfluorescein sowohl im Stratum corneum als auch in den Follikeln. Die erhöhten Werte der asiatischen Probanden nach 24 und 96 Std. sind unter anderem mit habituellen bzw. kulturellen Gewohnheiten zu erklären: Die Untersuchungen erfolgten im Sommer. Die asiatischen Probanden haben damals im Gegensatz zu den Afrikanern und Kaukasiern ausnahmslos kurze Hose getragen. Da das Natriumfluorescein im Bereich der Wade appliziert wurde, haben Asiaten wegen ihrer kurzen Kleidung weniger geschwitzt. Darüber hinaus wurde die applizierte Substanz nicht durch den Hosenstoff von der Hautoberfläche abgerieben.

Darüber hinaus weist die Differential-Stripping-Methode einige Nachteile auf, die z. T. zu ungenauen Ergebnissen führen können.

Bei der Methode wird das Stratum corneum, welches den Fluoreszenzfarbstoff enthält, mittels der Abrissmethode entfernt. Die Abrisse werden hinsichtlich ihrer Fluoreszenz kontrolliert. Da die Haut jedoch auch eine eigene Fluoreszenz hat, liegt es auch im Ermessen und an der Erfahrung des Untersuchers, darüber zu entscheiden, ob es sich



um den Fluoreszenzfarbstoff oder um die Eigenfluoreszenz handelt. Bei jedem Abriss wird durch die Rolle ein Druck auf die Haut ausgeübt. Je mehr Stratum corneum Abrisse gemacht werden, desto mehr Fluoreszenzfarbstoff wird aus dem Follikelfundibulum ausgedrückt und folglich weniger mit der Follikelbiopsie gewonnen. In dieser Arbeit wurden alle Versuche von derselben Person durchgeführt. Bei allen Probanden wurde die gleiche Anzahl an Stratum corneum-Abrissen entnommen. Unterschiedliche menschliche Einflussfaktoren auf die Ergebnisse beim Vergleich von den drei ethnischen Gruppen sind daher zu vernachlässigen.

Andererseits ist die Wirkung der Wetterbedingungen auf die Follikelpenetration nicht auszuschließen. Die Penetrationsuntersuchungen wurden im Sommer durchgeführt: den Probanden wurden die Proben innerhalb eines Monats entnommen. Die Außentemperaturen lagen zu diesem Zeitpunkt besonders hoch: sie schwankten zwischen 28°C und 31°C. Laut eigener Aussagen hatten alle Probanden im Untersuchungszeitraum eine erhöhte Schweißproduktion. Schweiß und Sebum werden auf die Hautoberfläche befördert, entgegen der Penetrationsrichtung. Dadurch wurde das Natriumfluorescein möglicherweise aus den Follikeln teilweise wieder herausgewaschen, was zu niedrigeren Werten bei der Follikelpenetration geführt haben könnte. Zurzeit gibt es keine Daten, ob eine erhöhte Schweißproduktion die Penetrationsprozesse negativ beeinflusst. Über die hitzebedingte Talgproduktion von Ratten- und Schweinehaut wurde eine Studie von Meidan veröffentlicht. Die Schweinehaut ist am ehesten vergleichbar mit der menschlichen Haut. Hier wurde nachgewiesen, dass starkes Erhitzen der Haut zur Entleerung der Talgdrüsen führt. Der Talg füllt den Haarfollikel und blockiert den Penetrationsweg für die hydrophilen Substanzen, welche normalerweise durch den Haarfollikel penetrieren [70].

## **Zusammenfassung**

Hintergrund: Ethnische Unterschiede der Haut machen sich nicht nur in der Hautfarbe bemerkbar. Tatsächlich weisen viele Untersuchungen darauf hin, dass die verschiedenen ethnischen Gruppen auch unterschiedliche morphologische und funktionelle Hautcharakteristika besitzen, die dann bei der Entwicklung und Anwendung von kosmetischen oder therapeutischen Topika unbedingt berücksichtigt werden müssen, da eine unterschiedliche Penetration und damit Wirkung die Folge sein kann.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher schwerpunktmäßig die ethnischen Unterschiede in Bezug auf verschiedene hautphysiologische Parameter sowie die Haar- und Follikelmorphologie untersucht. Darüber hinaus wurde sowohl das interzelluläre als auch das follikuläre Penetrationsverhalten von topisch applizierten Substanzen überprüft, da die Haarfollikel bei der Hautpenetration von topisch applizierten Substanzen eine große Rolle spielen.

Methoden: In die Untersuchungen wurden jeweils 6 Probanden aus drei ethnischen Gruppen (Kaukasier, Afrikaner, Asiaten) eingeschlossen. Neben der Bestimmung von hautphysiologischen Parametern (TEWL, Hautfeuchte, pH, Sebum, Hautrauhigkeit, Melaninverteilung und Antioxidantienkonzentration) wurden bei den Probanden verschiedene follikelmorphologische Parameter der Haare (Haardurchmesser, Haardichte, Follikelöffnungsdurchmesser, Volumen und Fläche des Follikelinfundibulums) im Bereich der Wade und des Capillitiums vermessen.

Im dritten Teil der Studie wurde die follikuläre und intrazelluläre Penetration von topisch appliziertem Natriumfluorescein in wässriger Lösung mittels der Differential-Stripping-Methode untersucht. Hierbei wird zunächst das Stratum corneum mit der Abrissmethode entfernt und anschließend der Inhalt der Haarfollikel mit einem Cyanoacrylatabriss entnommen. Die Menge an penetriertem Natriumfluorescein wurde 30 min, 24 und 96 Stunden nach topischer Applikation im Stratum corneum und in den Haarfollikeln mit Hilfe von fluoreszenzspektroskopischen Messungen bestimmt.

Ergebnisse: Die Untersuchungen der hautphysiologischen Parameter ergaben bei den drei ethnischen Gruppen vergleichbare Werte in Bezug auf TEWL, Hautfeuchte, pH, Sebum, Hautrauhigkeit und Antioxidantienkonzentration, während die Afrikaner

erwartungsgemäß im Vergleich zu den anderen beiden ethnischen Gruppen in allen Epithelschichten vermehrte Melaninmengen aufwiesen.

Die Vermessung der Haarfollikel am Capillitium ergab, dass die Kaukasier deutlich größere Terminalhaarfollikel besitzen als die Asiaten und Afrikaner. Die Haarfollikelfläche ist ein wichtiger Parameter für die Hautpenetration. Sie stellt die zusätzlich zu Verfügung stehende Absorptionsfläche dar. Im Bereich der Wade macht sie bei den Kaukasiern 3%, bei den Afrikaner 2,6% und bei den Asiaten 2,4% der Hautoberfläche aus.

Neben der Ermittlung des Haarfollikelreservoirs, welches keine ethnischen Unterschiede aufwies, wurde gleichzeitig die interzelluläre und follikuläre Penetration im Bereich der Wade untersucht. Nach 30-minütiger Penetrationszeit waren bei den ethnischen Gruppen keine signifikanten Unterschiede detektierbar. Nach einer Penetrationszeit von 24 und 96 Std. wiesen die asiatischen Probanden jedoch signifikant höhere Werte auf, wobei dieser Effekt sich vermutlich mit habituellen Gewohnheiten erklären lässt

Schlussfolgerung: Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten weisen daraufhin, dass ethnische Unterschiede der Haut und Haarfollikel zwar in einigen Bereichen vorhanden sind, der Einfluss auf die Penetration aber vermutlich eher zu vernachlässigen ist. Vielmehr scheinen bei der Entwicklung und Anwendung von Produkten auch habituelle und kulturelle Angewohnheiten mit berücksichtigt werden zu müssen. Dennoch wären weiterführende Forschungsvorhaben an größeren Probandenkollektiven durchaus von Interesse. Darüber hinaus wäre es sinnvoll und nützlich, das Haarfollikelreservoir und die interzelluläre und follikuläre Penetration auf der Kopfhaut zu untersuchen.

## Literaturverzeichnis:

1. Schaefer H, Redelmeier T: Skin barrier. Principles of percutaneous absorption. S Karger Pub, 1996
2. Kompaore F, Marty GP, Dupont C: In vivo evaluation of the stratum corneum barrier function in blacks, Caucasians and Asians with two noninvasive methods. *Skin pharmacol* 6(3): 200-207, 1993
3. Weigand DA, Haygood C, Gaylor JR: Cell layers and density of Negro and Caucasian stratum corneum. *J Invest Dermatol* 62: 563-565, 1974
4. Montagna W, Carlisle K: The architecture of black and white facial skin. *J Am Acad Dermatol* 24: 929-937, 1991
5. Corcuff P, Lotte C, Rougier A, Maibach H: Racial differences in corneocytes. *Acta Derm Venerol (Stockh)* 71:146-148, 1991
6. Öhman H, Vahlquist A: In vivo studies concerning a pH gradient in human stratum corneum and upper dermis. *Acta Dermato-Venerol* 74: 375-379, 1994
7. Reed JT, Ghadially R, Elias PM: Effect of race gender, and skin type of epidermal permeability barrier function. [abstract] *J Invest Dermatol* 102: 537, 1994
8. Berardesca E, Maibach H: Ethnic skin: Overview of structure and function. 48: 139-142, 2003
9. Astner S, Burnett N, Rius-Diaz F, Doukas AG, Gonzalez S, Gonzalez E: Irritant contact dermatitis induced by a common household irritant: A non-invasive evaluation of ethnic variability in skin response. *J Am Acad Dermatol* 54: 458-465, 2006
10. Berardesca E, Maibach H: Racial differences in sodium lauryl sulphate induced cutaneous irritation: black and white. *Contact Dermatitis* Feb 18 (2):65-70, 1988
11. Berardesca E, Maibach H: Sodium-lauryl-sulphate-induced cutaneous irritation. Comparison of white and Hispanic subjects. *Contact Dermatitis* Aug 19 (2): 136-140, 1988
12. Wilson D, Berardesca E, Maibach HI: In vitro transepidermal water loss: differences between black and white skin. *Br J Dermatol* 119: 647-652, 1988

13. Grimes P, Edison BL, Green BA, Wildnauer RH: Evaluation of inherent differences between African American and white skin surface properties using subjective and objective measures. *Cutis*, Jun 73(6): 392-396, 2004
14. Berardesca E, Pirot F, Singh M, Maibach H: Differences in stratum corneum pH gradient when comparing white Caucasian and black African-American skin. *Br J Dermatol* 139:855-857, 1998
15. Foy V, Weinkauff R, Whittle E, Basketter DA: Ethnic variation in the skin irritation response. *Contact Dermatitis* 45: 346-349, 2001
16. Robinson MK, Racial differences in acute und cumulative skin irritation responses between Caucasian und Asian populations. *Contact Dermatitis* 42: 134-143, 2000
17. Weigand DA, Gaylor JR: Irritant reaction in Negro and Caucasian skin. *South Med J* 67: 548-551, 1974
18. York M, Griffiths HA, Whittle E, Basketter DA: Evaluation of a human patch test for the identification and classification of skin irritation potential. *Contact Dermatitis* 34: 204-212, 1996
19. Guy RH, Tur E, Bjerke S, Maibach HI: Are there age and racial differences to methyl nicotinate – induced vasodilatation in human skin? *J Am Acad Dermatol* 12:1001-1006, 1983
20. Lindemann U, Frankowski G, Schaefer H, Sterry W, Lademann J: Wie alt ist unsere Haut? Über die Haut und ihre Alterung. *Humboldt-Spektrum* 4: 4-7, 2002
21. Dangoisse C: Dermo-cosmetics and prevention of skin aging. *Rev Med Brux* 25: A365–A370, 2004
22. Lenz H, Schmidt M, Welge V, Schlattner U, Wallimann T, Elsasser HP, Wittern KP, Wenck H, Stab F, Blatt T: The creatine kinase system in human skin: protective effects of creatine against oxidative and UV damage in vitro and in vivo. *J Invest Dermatol* 124: 443–452, 2005
23. Nouveau-Richard S, Yang Z, Mac-Mary S: Skin ageing: a comparison between Chinese and European populations. A pilot study. *J. Dermatol Sci* 40, 187–193, 2005
24. Tsukahara K, Fujimura T, Yoshida Y: Comparison of age-related changes in wrinkling and sagging of the skin in Caucasian females and in Japanese females. *J Cosmet Sci* 55 : 351–371, 2004

25. Fujimura T, Sugata K, Haketa K, Hotta M: Roughness analysis of the skin as a secondary evaluation criterion in addition to visual scoring is sufficient to evaluate ethnic differences in wrinkles. *J Cosmet Sci*, 31: 361-367, 2009
26. Abdulmajed K, Heard CM, McGuigan C, Pugh WJ: Topical delivery of retinyl ascorbate co-drug. 2. Comparative skin tissue and keratin binding studies. *Skin Pharmacol. Physiol.* 17: 274–282, 2004
27. Stahl W, Sies H: Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Bioch. Biophys Acta* 1740: 101–107, 2005
28. Ermakov IV, Ermakova MR, Gellermann W, Lademann J: Noninvasive selective detection of lycopene and beta-carotene in human skin using Raman spectroscopy, *J. Biomed. Opt.* 9: 332– 338, 2004
29. Darvin ME, Patzelt A, Gehse S, Schanzer S, Benderoth S, Sterry W, Lademann J: Cutaneous concentration of lycopene correlates significantly with the roughness of the skin. *Eur J Pharm Biopharm* 69 : 943-947, 2008
30. Darvin ME, Gersonde I, Albrecht H, Meinke M, Sterry W, Lademann J: Determination of beta carotene and lycopene concentrations in human skin using resonance Raman spectroscopy. *Laser Phys.* 15: 295–299, 2005
31. Alaluf S, Atkins D, Barrett K, Blount M, Carter N, Heath A: Ethnic variation in melanin content and composition in photoexposed and photoprotected human skin. *Pigment Cell Res* 15: 112-118, 2002
32. Kaidbey KH, Agin PP, Sayre RM, Kligman A: Photoprotection by melanin – a comparison of black and Caucasian skin. *J Am Acad Dermatol* 1: 249-260, 1979
33. Taylor SC: Skin of color: biology, structure, function, and implications for dermatologic disease. *J Am Acad Dermatol* Feb 46 (2): 41-62, 2002
34. Richards GM, Oresajo CO, Halder RM: Structure and function of ethnic skin and hair. *Dermatol Clin* 21:595-600, 2003
35. Berardesca E, Maibach H: Racial differences in pharmacodynamic response to nicotines in vivo in human skin: black and white. *Acta Derm Venereol* 70(1): 63-66, 1990
36. Lotte C, Wester RC, Rougier A, Maibach HI: Racial differences in the in vivo percutaneous absorption of some organic compounds: a comparison between black, Caucasian and Asian subjects. *Arch Dermatol Res* 284:456-459, 1993

37. Wedig JH, Maibach HI: Percutaneous penetration of dipyrithione in man: effect of skin color (race). *J Am Acad Dermatol* Oct 5(4): 433-438, 1981
38. Stoughton RB: Bioassay methods for measuring percutaneous absorption. In: Berardesca E, Maibach H: Racial differences in skin pathophysiology. *J Am Acad Dermatol* 34: 667-720, 1996
39. Bronaugh RL, Stewart FR, Simon M: Methods for in vitro percutaneous absorption studies VII: use the excised human skin. In: Berardesca E, Maibach H: Racial differences in skin pathophysiology. *J Am Acad Dermatol* 34: 667-720, 1996
40. Tur E, Maibach HI, Guy RH: Percutaneous penetration of methyl nicotinate at three anatomic sites: evidence for an appendageal contribution to transport? *Skin Pharmacol* 4(4): 230-234, 1991
41. Essa EA, Bonner MC, Barry BW: Human skin sandwich for assessing shunt route penetration during passive and iontophoretic drug and liposome delivery. *J Pharm Pharmacol* Nov; 54(11): 1481-90, 2002
42. Lademann J, Otberg N, Richter H, Weigmann HJ, Lindemann U, Schaefer H, Sterry W: Investigation of follicular penetration of topically applied substances. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14:17-22, 2001
43. Lademann J, Weigmann HJ, Rickmeyer C, Barthelmes H, Schaefer H, Mueller G, Sterry W: Penetration of titanium dioxide microparticles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifices. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 12: 247-256, 1999
44. Ogiso T, Shiraki T, Okajima K, Tanino T, Iwaki M, Wada T: Transfollicular drug delivery: penetration of drugs through human scalp skin and comparison of penetration between scalp and abdominal skins in vitro. *J Drug Target* 10(5):369-378, 2002
45. Teichmann A, Jacobi U, Ossadnik M, Richter H, Koch S, Sterry W, Lademann J: Differential stripping: determination of the amount of topically applied substances penetrated into the hair follicles. *J Invest Dermatol* 125:264-269, 2005
46. Blume-Peytavi U, Tosti A, Whiting DA, Trüeb R: Hair Growth and Disorders. Springer Verlag, 2008
47. Hoffmann RM: Gene and stem cell therapy of the hair follicle. *Methods Mol Biol* 289: 437-448, 2005

48. Tsai RY, Lee SH, Chan HL: The distribution of follicular units in the Chinese scalp: implications for reconstructions of natural-appearing hairlines in Orientals. *Dermatol Surg* 28(6):500-503, 2002
49. Franbourg A, Hallegot P, Baltenneck F, Toutain C, Leroy F: Current research on ethnic hair. *J Am Acad Dermatol* 48: 115-119. 2003
50. Loussouarn G: African hair growth parameters. *Br J Dermatol* 145:294-297, 2001
51. Loussouarn G, El Rawadi C, Genain G: Diversity of hair growth profiles. *Int J Dermatol* 44, Suppl. 1: 6-9, 2005
52. Sinclair R, Chapan A, Magee J: The Lack of significant changes in scalp hair follicle density with advancing age. *British J Dermatol* 152: 646-649, 2005
53. Lee HJ, Ha SJ, Lee JH, Kim JW, Kim HO, Whiting DA: Hair counts from scalp biopsy specimens in Asians. *J Am Acad Dermatol Febr*; 46(2): 218-221, 2002
54. Sperling LC: Hair density in African American. *Arch Dermatol* 135: 656-658, 1999
55. Whiting DA: Diagnostic and predictive value of horizontal sections of scalp biopsy specimens in male pattern androgenic alopecia. *J Am Acad Dermatol* 28: 755-763, 1993
56. Blume U, Verschoore M, Poncet M, Czernielewski J, Orfanos CE, Schaefer H: The vellus hair follicle in acne: hair growth and sebum excretion. *Br J Dermatol* 129: 23-27, 1993
57. Pagnoni AP, Kligman AM, Gammal SEL, Stoudemayer T: Determination of density of follicles on various regions of the face by cyanoacrylate biopsy: correlation with sebum output. *Br J Dermatol* 131: 862-965, 1994
58. Otberg N, Richter H, Schaefer H, Blume-Peytavi U, Sterry W, Lademann J: Variations of hair follicle size and distribution in different body sites. *J Invest Dermatol* 122:14-19, 2004
59. Mangelsdorf S, Otberg N, Maibach HI, Sinkgraven R, Sterry W, Lademann J: Ethnic variation in vellus hair follicle size and distribution. *Skin Pharmacol Physiol* 19:159-167, 2006
60. Tenjarla SN, Kasina R, Puranajoti P, Omar MS, Harris WT: Synthesis and evaluation of N-acetylproline esters – Novel skin penetration enhancers. *Int J Pharm* 192: 147-158, 1999



61. Otberg N, Patzelt A, Rasulev U, Hagemeister T, Linscheid M, Sinkgraven R, Sterry W, Lademann J: The role of hair follicles in the percutaneous absorption of caffeine. *Br J Clin Pharmacol* 65/4: 488-492, 2007
62. Lademann J, Richter H, Schaefer UF, Blume-Peytavi U, Teichmann A, Otberg N, Sterry W: Hair follicles – a long-term reservoir for drug delivery. *Skin Pharmacol Physiol* 19: 232-236, 2006
63. Otberg N, Richter H, Knuttel A, Schaefer H, Sterry W, Lademann J: Laser spectroscopic methods for the characterization of open and closed follicles. *Laser Phys Lett* 1: 46-49, 2004
64. El Maghraby GMM, Williams AC, Barry BW: Skin hydration and possible shunt route penetration in controlled oestradiol delivery from ultradeformable liposomes. *J Pharm Pharmacol* 53: 1311-1322, 2001
65. Alvarez-Roman R, Naik A, Kalia YN, Fessi H, Guy RH: Visualization of skin penetration using confocal laser scanning microscopy. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58: 301-316, 2004
66. Grams YY, Bouwstra JA: Penetration and distribution of three lipophilic probes in vitro in human skin focusing on the hair follicle. *J Contr Release* 83: 253-262, 2002
67. Hueber F, Besnard M, Schaefer H, Wepierre J: Percutaneous absorption of estradiol and progesterone in normal and appendage-free skin of the hairless rat: lack of importance of nutritional blood flow. *Skin Pharmacol* 7: 245-256, 1994
68. Pochi PE, Strauss JS: Sebaceous gland activity in black skin. *Dermatol Clin* Jul 6 (3): 349-351, 1988
69. Schaefer H, Lademann J: The role of follicular penetration. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14:23-27, 2001
70. Meidan VM, Docker M, Walmsley AD, Irwin WJ: Low intensity ultrasound as a probe to elucidate the relative follicular contribution to total transdermal absorption. *Pharm. Res.* 15: 85-92, 1998
71. Sugino K, Imokawa G, Maibach H: Ethnic difference of stratum corneum lipid in relation to stratum corneum function. *J Invest Dermatol* 100:587, 1993
72. Otberg N. Follikelpenetration: Penetrationsverhalten topisch applizierter Substanzen in den Haarfollikel-Untersuchung der Physiologie und der Größenparameter von Körperhaarfollikeln. Dissertation, 2003

73. Fitzpatrick TB. Soleil et peau. *J Med Esthet* 2: 33-4, 1975
74. Escobar-Chávez JJ, Merino-Sanjuán V, López-Cervantes M, Urban-Morlan Z, Piñón-Segundo E, Quintanar-Guerrero D, Ganem-Quintanar A: The tape-stripping technique as a method for drug quantification in skin. *J Pharm Pharm Sci.* 11(1):104-30, 2008
75. Meyer LE, Otberg N, Sterry W, Lademann J: In vivo confocal scanning laser microscopy: comparison of the reflectance and fluorescence mode by imaging human skin. *J Biomed Opt* 11(4): 044012, 2006

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## *Eidesstattliche Erklärung*

Hiermit versichere ich, Natalie Luther, dass die vorliegende Dissertationsarbeit mit dem Thema: „Ethnische Unterschiede in der Hautphysiologie, Haarfollikelmorphologie und follikulären Penetration von topisch applizierten Substanzen“ von mir selbst ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst wurde und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten darstellt. Die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur sind vollständig angegeben.

Berlin 18.06.2011

## **Danksagung**

*Es ist mir ein aufrichtiges Bedürfnis, an dieser Stelle allen Personen, die mir die Entstehung dieser Arbeit ermöglicht haben, meinen großen Dank auszusprechen.*

*Dies gilt ganz besonders für Herrn Prof. Dr. Dr.-Ing. Jürgen Lademann, der mich auf das Thema dieser Arbeit aufmerksam gemacht hat und während der ganzen Bearbeitungszeit in vorbildlicher Weise betreut hat.*

*Ebenso aufrichtig danke ich Herrn Prof. Wolfram Sterry, der es mir ermöglichte, an der dermatologischen Klinik der Charite zu promovieren.*

*Nicht weniger herzlich bedanke ich mich bei Frau Dr. med. Alexa Patzelt, die mir als aufmerksame Begleiterin für die gesamte Arbeit mit Kritik und Anregungen jederzeit zur Verfügung stand, wie auch allen Mitarbeitern des Bereichs für Experimentelle und Angewandte Physiologie der Haut, hier ganz besonders Frau Richter und Frau Schanzer für ihre technischen und organisatorischen Hilfestellungen.*

*Ein großer Dank gilt natürlich auch meinen Probanden, die sich mutig der Wissenschaft zur Verfügung gestellt haben.*

*Eine besondere Erwähnung verdienen meine Eltern, die mir das Medizinstudium überhaupt erst ermöglicht haben, wie auch meinem Mann und meinen beiden Kindern ohne deren Geduld, Nachsicht und emotionale Unterstützung auch in kritischen Phasen diese Doktorarbeit nicht entstanden wäre.*